







# PFLÜGER'S ARCHIV

FÜR DIE GESAMTE

# PHYSIOLOGIE

DES MENSCHEN UND DER TIERE

HERAUSGEGEBEN

VON

**E. ABDERHALDEN**  
HALLE A. S.

**A. BETHE**  
FRANKFURT A. M.

**R. HÖBER**  
KIEL

196. BAND

MIT 201 TEXTABBILDUNGEN



BERLIN

VERLAG VON JULIUS SPRINGER

1922

## Inhaltsverzeichnis.

	Seite
<b>Kolmer, W. und R. Löwy.</b> Beiträge zur Physiologie der Zirbeldrüse. (Mit 5 Textabbildungen) . . . . .	1
<b>Haffner, F.</b> Über den Mechanismus von Hämolyse und Agglutination durch Ionen. (Mit 1 Textabbildung) . . . . .	15
<b>Nirenstein, Edmund.</b> Über das Vorkommen freier Säure im Verdauungstrakt von Oligochaeten . . . . .	60
<b>Brinkman, R. und E. van Dam.</b> Die chemische Übertragbarkeit der Nervenreizwirkung. (Mit 5 Textabbildungen) . . . . .	66
<b>Werner, F. Felix.</b> Physiologische und pharmakologische Studien an der Atmung des Kaltblütlers. (Mit 9 Textabbildungen) . . . . .	83
<b>Pergler, Hans.</b> Untersuchungen über das Aussalzen der Polysaccharide und über den Verlauf der Säurehydrolyse der Stärke . . . . .	92
<b>Kohlrausch, Arnt.</b> Untersuchungen mit farbigen Schwellenprüflichtern über den Dunkeladaptationsverlauf des normalen Auges . . . . .	113
<b>Abelsdorff, G., W. Dieter und A. Kohlrausch.</b> Weitere Untersuchungen über den Dunkeladaptationsverlauf bei verschiedenen Farbensystemen und bei Adaptationsstörungen . . . . .	118
<b>Nakagawa, Tomoichi.</b> Die Wirkung von Kalebassen-Curare auf die Irisbewegung . . . . .	123
<b>Hart, C.</b> Beiträge zur biologischen Bedeutung der innersekretorischen Organe. I. Mitteilung. Schilddrüse und Metamorphose. (Mit 7 Textabbildungen)	127
— Beiträge zur biologischen Bedeutung der innersekretorischen Organe. II. Mitteilung. Der Einfluß abnormer Außentemperaturen auf Schilddrüse und Hoden. (Mit 6 Textabbildungen) . . . . .	151
<b>Lasareff, P.</b> Untersuchungen über die Ionentheorie der Reizung. IV. Mitteilung. Die Theorie der Erscheinungen des Flimmerns beim Dunkelsehen. (Mit 1 Textabbildung) . . . . .	177
<b>Spiegel, E. A. und Th. D. Démétriades.</b> Beiträge zum Studium des vegetativen Nervensystems. III. Mitteilung. Der Einfluß des Vestibularapparates auf das Gefäßsystem. (Mit 12 Textabbildungen) . . . . .	185
<b>Mangold, Ernst.</b> Untersuchungen über Muskelhärte. I. Mitteilung. Eine allgemein anwendbare Methode zur physiologischen Härtebestimmung. (Mit 3 Textabbildungen) . . . . .	200
— Untersuchungen über Muskelhärte. II. Mitteilung. Die Härtemessung in Totenstarre und Wärmerstarre. (Mit 1 Textabbildung) . . . . .	215
<b>v. Wyss, W. H. und N. Messerli.</b> Reflexe vom Mesenterium auf das Herz. (Mit 7 Textabbildungen) . . . . .	229
<b>Takahashi, N.</b> Hodenatrophie nach Exstirpation des abdominalen Grenzstranges. (Mit 2 Textabbildungen) . . . . .	237
<b>Efimoff, W. W. und A. W. Efimoff.</b> Das Weber-Fechnersche Gesetz bei der Arbeit des Menschenmuskels. (Mit 1 Textabbildung) . . . . .	243

<b>Liljestrand G., C. de Lind van Wijngaarden und R. Magnus.</b> Ist die Lunge undurchgängig für Ammoniak? (Mit 5 Textabbildungen) . . .	247
<b>Bohnenkamp, Helmuth.</b> Über die Wirkungsweise der Herznerven. (Mit 21 Textabbildungen) . . . . .	275
<b>Gellhorn, Ernst.</b> Untersuchungen zur Physiologie der räumlichen Tastempfindungen unter Berücksichtigung der Beziehungen des Tastraumes zum Sehraume. II. Mitteilung. (Mit 11 Textabbildungen) . . . . .	311
<b>de Kleyn, A. und C. Versteegh.</b> Beiträge zur Pharmakologie der Körperstellung und der Labyrinthreflexe. VI. Mitteilung. Über eine Methode zur Lokalisierung der Angriffspunkte verschiedener Arzneimittel auf den vestibulären Nystagmus, mit besonderer Berücksichtigung der Wirkung von Nikotin. (Mit 8 Textabbildungen) . . . . .	331
<b>Schiff, Erich und Ibrahim Mandur.</b> Zur Frage der Hemmungsinervation der Schweißdrüsen . . . . .	345
<b>Gellhorn, Ernst.</b> Befruchtungsstudien. I. Mitteilung . . . . .	358
— Befruchtungsstudien. II. Mitteilung. (Mit 2 Textabbildungen) . . . .	374
<b>Weiss, Hermann.</b> Über den Einfluß unterschwelliger elektrischer Reizung auf den Permeabilitätszustand von Froschmuskeln . . . . .	393
<b>Kahn, R. H.</b> Aus der physiologischen Praxis. (Mit 5 Textabbildungen)	400
<b>Wertheimer, Ernst.</b> Untersuchungen am intakten Kreislauf verschiedener Organe beim Frosch . . . . .	412
<b>Kuré, Ken, Tetsushiro Shinosaki, Michio Kishimoto und Shigeoki Hatano.</b> Die morphologische Grundlage der sympathischen Innervation des quergestreiften Muskels und die Lokalisation der Zwischenschaltganglien der tonusgebenden Faser für den quergestreiften Muskel. (Mit 3 Textabbildungen) . . . . .	423
<b>Aberhalden, Emil und Ernst Wertheimer.</b> Weitere Studien über das Wesen des anaphylaktischen Schockes. II. Mitteilung. Untersuchungen über den Gesamt- und den Gewebsgaswechsel im anaphylaktischen Schock bei Tauben. (Mit 9 Textabbildungen) . . . . .	429
— — Weitere Studien über das Wesen des anaphylaktischen Schockes. III. Mitteilung. Zugleich ein Beitrag zum Studium des Wesens der alimentären Dystrophie. (Mit 1 Textabbildung) . . . . .	440
<b>Hertz, Wilhelm.</b> Die Vitalfärbung von Opalina ranarum mit Säurefarbstoffen und ihre Beeinflussung durch Narkoticum . . . . .	444
<b>Spiegel, E. A.</b> Entgegnung auf R. H. Kahns Kritik der Arbeit „Der Klammerreflex nach Sympathicusexstirpation“ . . . . .	458
<b>Gellhorn, Ernst und Ernst Wertheimer.</b> Berichtigung zu der Abhandlung „Über den Parallelitätseindruck“ . . . . .	462
<b>Lipschitz, Werner.</b> Über den Mechanismus der Zelloxydationen und der Blausäurewirkung. (Mit 8 Textabbildungen) . . . . .	463
<b>Neuschlosz, S. M.</b> Untersuchungen über die Wirkung von Neutralsalzen auf den tonischen Anteil der Muskelzuckung. (Mit 13 Textabbildungen)	503
<b>Mittelmann, Béla.</b> Über länger anhaltende (tonische) Beeinflussungen des Kontraktionszustandes der Skelettmuskulatur des Menschen . . . . .	531
<b>Mond, Rudolf.</b> Untersuchungen über die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf Eiweißlösungen. I. Mitteilung. (Mit 8 Textabbildungen) . . . .	540
<b>Herrel, Hermann.</b> Das Blut der Haustiere mit neueren Methoden untersucht. III. Mitteilung. Differentialzählungen der Lymphocyten und Monocyten im Pferde-, Rinder- und Hundeblood . . . . .	560
<b>Jonkhoff, J. J.</b> Beiträge zur Pharmakologie der Körperstellung und der Labyrinthreflexe. VII. Mitteilung. Oleum Chenopodii. (Mit 5 Textabbildungen)	571

	Seite
<b>Abderhalden, Emil</b> und <b>Ernst Gellhorn.</b> Beiträge zur allgemeinen Zellphysiologie. Studien über die Quellbarkeit von Muskeln und ihre Permeabilität unter verschiedenen Bedingungen. (Mit 10 Textabbildungen)	584
— — Das Verhalten des Herzstreifenpräparates (nach Loewe) unter verschiedenen Bedingungen. II. Mitteilung. Versuche über den Einfluß von l-, d- und d-l-Adrenalin auf den schlagenden und nichtschlagenden Herzstreifen. (Mit 27 Textabbildungen)	608
<b>Noll, A.</b> Zur Kenntnis des Verlaufs der Pupillenfasern beim Vogel. (Mit 5 Textabbildungen)	629
<b>Natanssen, Hugo.</b> Sind die durch Salze erzeugten Ruheströme Ströme einer Beutnerschen Ölkette?	637
<b>Rywosch, D.</b> Über die Beeinflussung der Hämolyse durch Fütterung mit Cholesterin und Fetten	643
<b>Autorenverzeichnis</b>	646



## Beiträge zur Physiologie der Zirbeldrüse.

Von

W. Kolmer und R. Löwy<sup>1)</sup>.

(Aus dem physiologischen Institut der Wiener Universität, Abteil. Prof. Kolmer.)

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. April 1922.)

Das Zusammentreffen bestimmter klinischer Erscheinungen mit pathologisch-anatomisch und histologischen Veränderungen an der Zirbeldrüse war Veranlassung gewesen, diesem Organ eine innersekretorische Tätigkeit zuzuschreiben. Besonders *Frankl-Hochwart* und *Marburg* wiesen auf Grund eigener und in der Literatur niedergelegter Fälle auf Beziehungen zwischen der genitalen Frühreife und Zirbeldrüsentumoren bei jugendlichen Individuen hin. In Verfolg dieser Studien stellte dann *Marburg* den Satz auf, daß neben dem Hypergenitalismus allgemeine Verfettung ein charakteristisches Symptom der Zirbeldrüsen geschwulst darstellt. Die Annahme *Marburgs*, daß diese Erscheinungen auf den Wegfall des die Entwicklung der Geschlechtsdrüsen hemmenden Zirbeldrüsensekretes zurückzuführen sind, blieben nicht unwidersprochen. So sieht *Askenasy* im frühzeitigen Auftreten der Geschlechtsreife nicht den Ausfall eines hemmenden Zirbeldrüsenhormones, sondern er führt diese Erscheinungen auf die Eigenart der sich dort entwickelnden Geschwülste zurück, die, an anderer Stelle sich etablierend, unter den gleichen Voraussetzungen das gleiche klinische Bild zeitigen müssen. Die epiphysäre Fettsucht wird von *Lucae* als nicht bestehend abgelehnt, sondern auf den durch den Druck der Zirbeltumoren entstehenden Hydrocephalus internus und seine Einwirkung auf die am Ventrikelboden liegenden Zentren zurückgeführt. Als Stütze dieser Ansicht zieht er neben einem eigenen Falle eine klinische Beobachtung *Wilhelm Mayers* von allgemeiner Verfettung heran, bei der der ganze Verlauf auf einen Hydrocephalus internus mit besonderer Beteiligung des dritten Ventrikels schließen läßt. Von besonderem Belange scheint unserer Meinung die Tatsache zu sein, daß die Erscheinungen der genitalen Frühreife beim weiblichen Individuum durch Tumoren der Nebennierenrinde bewirkt werden können. Diesem Widerspruch versuchte man damit zu begegnen, daß man die hormonale

<sup>1)</sup> Vorläufig mitgeteilt in einem am 20. II. 1922 in der Gesellschaft für Biologie in Wien gehaltenen Vortrag.

Beeinflussung der Geschlechtsdrüsen durch die Zirbel nur für das männliche Individuum gelten lassen wollte. Diese Hypothese würde eine geschlechtliche Differenzierung des Pinealorganes erfordern, für die anatomisch kein Anhaltspunkt gegeben ist und die sich auch dadurch erledigt, daß vereinzelt Anzeichen geschlechtlicher Frühreife bei weiblichen Individuen beobachtet wurden, bei denen keine Veränderungen der Nebenniere, aber, wie der jüngste Fall *Askenasys* zeigt, eine gewisse Unterentwicklung der Zirbeldrüse, also scheinbar ein Hypopinealismus bestand. Doch auch für das männliche Individuum sind diese Beziehungen nicht vollkommen sichergestellt, da einerseits *Sacchi* das Symptomenbild der genitalen Frühreife bei einem Fall von Hodenteratom beobachtet hat, welche Erscheinungen sich nach Entfernung der Geschwulst vollständig zurückbildeten, und andererseits jüngst von *Zandren* eine Beobachtung mitgeteilt wurde, einen 16jährigen Knaben betreffend, bei dem klinisch unter anderem verspäteter Zahndurchbruch und das *Fehlen* jeglicher Pubertäterscheinungen festgestellt werden konnte; der autoptische Befund aber eine *Aplasie* der Zirbeldrüse und eine Unterentwicklung der Hoden aufdeckte.

Um in dieses komplizierte Problem Licht zu bringen, wurden von verschiedenen Autoren Injektions- und Verfütterungsversuche herangezogen. Es würde hier zu weit führen, darauf im einzelnen zurückzukommen.

Sind doch die Ergebnisse, zu denen die verschiedenen Autoren auf Grund ihrer Injektionsversuche gelangten, noch sehr widersprechend. Beachtenswert erscheinen uns hier nur die allerdings nicht nachgeprüften Versuche *Fränkls*, der mit Epiglandol eine Erweiterung der Kopfgefäße erzielte. Von den Verfütterungsversuchen sei nur der umfangreichen Untersuchungsreihen *McCords* gedacht. Er verfütterte Serien junger Meerschweinchen Zirbeldrüsen junger und alter Rinder. Bei den mit Kälberzirbeln gefütterten jungen Meerschweinchen zeigte sich gegenüber den Kontrollen eine deutliche Gewichtszunahme. Die Verfütterung der Zirbeln älterer Tiere blieb ohne jeglichen Einfluß. Der in diesen Versuchsreihen erzielte Gewichtsüberschuß der mit Zirbeldrüsen verfütterten Tiere ließe sich nur durch die Annahme eines Hyperpinealismus erklären.

Um die Ausfallserscheinungen der Zirbelzerstörung kennen zu lernen, wurde auch das Tierexperiment herangezogen, wiewohl die topographische Lage der Drüse diesem Beginnen große Schwierigkeiten in den Weg legt. Erwähnenswert und uns von Interesse sind die Versuche nur weniger Autoren. Schon vor längerer Zeit unternahmen es *Ecner* und *Böse*, die Zirbeldrüse beim Kaninchen zu zerstören, doch überlebten diesen Eingriff nur wenige Versuchstiere durch längere Zeit. Die geringe Anzahl der gelungenen Versuche, aber noch mehr der Umstand, daß die Autoren

auf Grund ihrer Untersuchungen zum Ergebnis kamen, die Zerstörung der Zirbel bedinge keine Ausfallserscheinung, ein Resultat, das den Erwartungen vieler Forscher nicht entsprach, bewirkte, daß ihren Untersuchungen keine Bedeutung beigemessen wurde. Dagegen schienen die Experimente italienischer Forscher den von klinischer Seite vorausgesetzten hemmenden Einfluß des Pinealorganes auf die Geschlechtsdrüsen jugendlicher Individuen zu bestätigen. Auf die Untersuchungsergebnisse *Foás*, die dann auch durch *Sarteschi* ihre Bestätigung fanden, muß hier näher eingegangen werden, da diese als eindeutig in der Literatur wiederholt Gegenstand der Besprechung gewesen sind, ja sogar gültige Prämissen für Schlüsse anderer Autoren abgegeben haben. *Foá* operierte zunächst an Hühnern, bei denen er nach Zerstörung des Pinealorganes eine stärkere Ausbildung des Kammes nachweisen konnte. Bei Ratten fand er nach Zerstörung der Zirbel eine geringe Gewichtszunahme der operierten Tiere gegenüber den Kontrolltieren und auch eine Vergrößerung der Hoden. Der Gewichtsüberschuß der zirbellosen Versuchstiere verschwand aber nach einigen Wochen, so daß 6—7 Wochen nach der Operation keine Differenzen zwischen Zirbellosen- und Kontrolltieren nachweisbar waren. *Foá* bleibt allerdings den histologischen Beleg für die vollständige Entfernung der Zirbeldrüse schuldig, welcher Nachweis um so notwendiger ist, da wir bei einzelnen Tiergattungen das Vorkommen von Nebenzirbeln erweisen konnten. Auch die von *Foá* beigebrachten Abbildungen von Hodenschnitten der operierten und der Kontrolltiere gestatten keinen sicheren Schluß auf eine tatsächliche Hypertrophie der Hoden nach Zerstörung der Zirbel. Am histologischen Aufbau der Geschlechtsdrüsen, wie auch der anderen innersekretorischen Organe hat *Foá*, wie er ja selbst betont, keinerlei Verschiedenheiten gegenüber der Norm nachweisen können. Wir haben es daher unternommen, mittels einer einfachen, später zu beschreibenden Methode die Zirbeldrüse bei ganz jungen Ratten zu zerstören, um das Problem der Ausfallserscheinungen zu studieren. Nach einigen Fehlversuchen gelang die Entfernung der Zirbel einwandfrei und wir konnten die Versuchstiere, solange wir wollten, am Leben erhalten. Um den erwarteten Einfluß des Zirbeldrüsenausfalles möglichst ausgeprägt zu finden, versuchten wir die Zerstörung der Zirbeldrüse bei noch jüngeren Tieren als die waren, mit denen *Foá* arbeitete, bei Tieren von 30—50 g Gewicht. *Foá* operierte an 60—70 g schweren Ratten.

Nach leichter Äthernarkose läßt sich bei entsprechender Übung der Eingriff der eigentlichen Zirbelzerstörung in wenig mehr als einer Minute durchführen und bei bestem Gelingen läuft das Tier 10—15 Minuten nach der Operation wieder umher. Nach Bloßlegung des Schädeldaches durch einen sagittal verlaufenden Hautschnitt am hinteren Teil des Schädels treten die Konturen der Scheitelbeine hervor. Der Punkt, an dem die beiden Scheitelbeine mit dem Hinterhauptsbein zusammenstoßen, ist, wie wir feststellen konnten, die Projektion der Zirbeldrüse.

Geht man nun an dieser Stelle mit einem ganz dünnen elektrischen Thermokauter nach Durchbrennen eines runden Loches von nur 2—3 mm Durchmesser durch die Schädeldecke hindurch, so fällt bei entsprechender Schädelhaltung die Zirbel genau in den Verbrennungskegel des Thermokauters und wird mit Sicherheit zerstört. Die starke Blutung aus dem eröffneten Sinus wird gleichzeitig durch die Hitzekoagulation sicher gestillt, wenn man den schwach rotglühenden Thermokauter unter öfterem Abtupfen aus der Wunde herauszieht und vorsichtig wieder einschiebt. Bei genügender Übung lassen sich dabei gröbere Verletzungen des Großhirns sowie des angrenzenden Kleinhirns vermeiden, Mitverletzungen, die, wie im übrigen unsere Versuche zeigen, ohne besondere Störung vertragen werden.

Es seien nun im folgenden einige Versuchsprotokolle wiedergegeben:

#### Wurf W 1.

Dieser Wurf besteht aus 5 Tieren mit einem Gewicht von 51—55 g, davon wurden am 14. II. 3 Tiere (2 Männchen und 1 Weibchen) operiert, 1 Männchen und 1 Weibchen wurden als Kontrolltier belassen. Kurze Zeit nach der Operation erholten sich die Tiere und waren in ihrem Verhalten von den Kontrolltieren nicht zu unterscheiden.

Am 1. III. ergab eine neuerliche Wägung der Tiere dieses Wurfs folgende Gewichte: die operierten Tiere wogen 62, 65 und 67 g, die Kontrollen 71 und 72 g.

8. III. Das Gewicht der operierten Tiere betrug der Reihe nach 70, 75 und 80 g, das der Kontrolltiere 75 und 78 g.

17. III. Die Wägung der operierten Tiere ergab: 82, 90 und 100 g, der Kontrolltiere 85 und 88 g.

4. IV. Zwei der operierten Tiere mit einem Gewicht von 135 und 140 g wurden getötet und noch lebenswarm vom Herzen aus durch Injektion von Bichromat-Formol-Sublimat-Eisessiglösung fixiert. Das 3. operierte Tier wies ein Gewicht von 120 g auf, die beiden Kontrollen 120 und 128 g.

10. IV. Das operierte Tier und die beiden Kontrollen wogen 135 g, alle 3 Tiere wurden getötet.

Die makroskopische Untersuchung der operierten Tiere ergab folgendes: Von den am 4. IV. getöteten Versuchstieren zeigte das schwerste (140 Gramm) nur eine geringe Verkohlung der Zirbeloberfläche und wurde daher als nicht gelungen ausgeschieden, während die beiden anderen eine deutliche Zerstörung der Zirbeldrüse und teilweise auch der angrenzenden Hirnpartien zeigten. Die uns interessierenden Hirnabschnitte wurden in eine vollständige Frontalserie zerlegt. Von den operierten und auch von den Kontrolltieren wurden die innersekretorischen Organe, sowie die Geschlechtsdrüsen genau histologisch untersucht. Die Durchmusterung der Serienschnitte durch die uns interessierenden Hirnpartien ergibt an den beiden mit Erfolg operierten Tieren eine vollständige Zerstörung der Zirbeldrüse. In dem einen Falle war an der Stelle der Zirbel eine kraterförmige Vertiefung, durch einen Leukocytenwall und durch kleinere und größere Blutkoagula begrenzt, zurückgeblieben. In der zweiten Serie fanden wir an der Stelle der Zirbel einen kleinen, von Rundzellen umschiedeten Sequester, in dem keinerlei funktionsfähiges Zirbeldrüsenewebe nachweisbar war. Die histologische Untersuchung der anderen Organe ergibt keine Differenz zwischen

zirbellosen und Kontrolltieren. Besonders sei betont, daß der Hoden und Thymus im histologischen Aufbau vollständig normal waren.

Zu betonen wäre noch, daß die wiederholten Wägungen kaum Differenzen ergeben haben, die für einen erhöhten Fettansatz bei zirbellosen Tieren ins Treffen geführt werden können.

Wurf W 2 besteht aus 8 Tieren mit einem Gewicht von 40—47 g, bis auf 2 Kontrollen (1 Männchen und 1 Weibchen) werden alle Tiere dieses Wurfes am 25. IV. operiert. Die Operation wird gut überstanden, alle Tiere sind munter, fressen, es läßt sich kein Unterschied zwischen den Tieren mit Zirbelzerstörung und den Kontrolltieren in ihrem Verhalten feststellen.

Am 5. V. ergibt die Wägung bei den operierten Tieren Gewichte von: 62, 66, 70 und 76 g. Die Kontrolltiere hatten ein Gewicht von 65 und 72 g.

Am 17. V. lassen sich folgende Gewichtsverhältnisse nachweisen: 74, 76, 86 und 94 g. Bei den operierten Tieren 84 und 90 g bei den Kontrollen.

Am 27. V. Am Beginn der 6. Woche nach der Operation wiegen die operierten Tiere 98, 100, 105 und 115 g, die Kontrolltiere 100 und 110 g.

Am 17. VI., ungefähr 7 Wochen nach der Operation, beträgt das Gewicht der operierten Tiere 110, 120, 122 und 130 g. Die Kontrollen zeigten ein Gewicht von 120 und 125 g.

Am Beginn der 9. Woche wurde der eine Teil, Ende der 12. Woche nach der Operation der andere Teil der Tiere dieses Wurfes getötet und einer genauen histologischen Untersuchung unterzogen, diese ergab fast genau dieselben Resultate wie wir sie an den früher operierten Tieren erheben konnten.

Wurf W 8.

Von den 7 Tieren dieses Wurfes wurden 2 kastriert, an 3 wurde die Zirbelzerstörung vorgenommen und 2 Tiere wurden als Kontrolle belassen. Am Tage der Operation hatten die Tiere ein Durchschnittsgewicht von 35 g.

Am 12. VIII. 12 Tage nach der Operation, wogen die zirbellosen Tiere 42, 47 und 48 g. Die Kontrolltiere 46 und 55 g.

Am 14. IX., 4 Wochen nach der Operation, zeigten die epiphysektomierten Tiere folgende Gewichte: 68, 70 und 75 g. Kontrolltiere 65 und 70 g.

Am 3. X. wogen die epiphysenlosen Tiere 100, 105 und 115 g, die Kontrollen 90 und 105 g.

Auch die weiteren Wägungen ergaben keine verwertbaren Gewichts-differenzen, sondern nur geringe individuelle Gewichtsschwankungen, wie in der ersten Periode nach der Operation.

Die Tiere dieses Wurfes wurden nach der 10., 16. und 19. Woche nach der Operation getötet. Sowohl die makroskopische und mikroskopische Serienuntersuchung ergab das volle Gelingen der Zirbelzerstörung. Ebenso wenig ließ sich an den Geschlechtsdrüsen eine Differenz der Kontrolltiere erweisen. Gleichartige Versuche, es wurden an solchen Würfen 23 junge Tiere mit gleichgutem Erfolg operiert, hatten durchaus entsprechende Ergebnisse. Es erübrigt sich damit die fast ganz gleichlautenden Versuchsprotokolle des Näheren anzuführen.

Fassen wir die Ergebnisse der oben geschilderten Versuchsreihen zusammen, so ergibt sich demnach folgendes: *Bei Ratten kann auch an*

*ganz jungen Tieren die Zirbeldrüse vollständig entfernt werden, ohne daß eine Schädigung irgendwelcher Art zurückbleibt.*

An untenstehender Abb. 1 sieht man drei verschiedene Typen gelungener Zirbelzerstörung, die sich nur durch die Größe des gesetzten Defektes voneinander unterscheiden. (Das mittlere Bild mit dem kleinsten Defekt zeigt das Resultat eines der bestgelungenen Versuche.) Die dabei gesetzten Nebenverletzungen an anderen Hirnteilen waren anscheinend bedeutungslos, wenn wir sie nach dem Verhalten der Tiere, die sich in nichts von den Kontrolltieren unterschieden, beurteilen. Die an Serien vorgenommene histologische Untersuchung ergab, daß kein Rudiment normaler Zirbeldrüsen-elemente zurückgeblieben war.



Abb. 1. Beispiele von Hirnen von Ratten, denen mit Thermokauter vor drei Monaten die Epiphyse zerstört wurde. Das Mittelbild entspricht dem zumeist beobachteten guten lokalen Erfolg. Die seitlichen stellen die extremsten beobachteten Grade von Nebenverletzungen dar.

Dies muß betont werden, denn während an den anderen innersekretorischen Drüsen, Beinebennieren, Nebenschilddrüsen, Nebennieren usw. gelegentlich beschrieben wurden, ist uns von Befunden von Nebenzirbeln nichts bekannt. Wir fanden aber an der Sagittalseite eines Papio, so ziemlich in der Sagittalebene gelegen, von etwas Arachnoidalgewebe und einer besonderen bindegewebigen Kapsel umschieden, ein aus zwei kleinen Läppchen bestehendes sehr kleines Gebilde (s. Abb. 5) von ca. 150 im Durchmesser, das aus typischen Zirbelzellen zusammengesetzt war. Da diese Zellen durch die eigenartige Kernfaltung, die Färbbarkeit des Protoplasmas, Anordnung des Centrosoms durchaus dem nahegelegenen Zirbelementen gleichkam, müssen wir dieses Gebilde als Nebenzirbel ansprechen. Sowohl in der das Körperchen einhüllenden Kapsel, als auch im Körperchen selbst fanden sich, sowie in der eigentlichen Zirbel dunkelbraune, fast schwarze Pigmentmassen. Einen ähnlichen

Befund eines Nebenzirbelkörpers machten wir auch an einem 8 Tage alten Hund. Es fand sich dorsal von der Commissura posterior, teilweise zwischen die Faserbündel derselben eingelagert, eine Gruppe von typischen Zirbelzellen, die ebenfalls wie die der nahegelegenen Zirbel zahlreiche Pigmentkörnechen enthielt.

Weder in der ersten Periode nach der ersten Operation, die wir mit 6 Wochen begrenzten, innerhalb welcher Zeit Foá bei seinen zirbellosen Tieren eine Gewichtszunahme gegenüber den Kontrolltieren beobachten konnte, noch auch in der zweiten Periode in der 7. bis 14. bzw. 15. Woche nach der Operation konnten wir charakteristische Gewichtsunterschiede feststellen, da Differenzen von 10–15 g in den Bereich des physiologischen gerechnet werden müssen.

In bezug auf die Fortpflanzungsfähigkeit ließ sich bei den zirbellosen Tieren mit Sicherheit keine Frühreife nachweisen, ja wir wären sehr geneigt, eine Verzögerung anzunehmen, doch wollen wir uns diesbezüglich, da unser Material hierzu zu gering erschien, keinsicheres Urteil erlauben. Konzeption, Wurf und Aufzucht der Jungen durch epiphysektomierte Weibchen ging jedenfalls normal vor sich. Die voll-

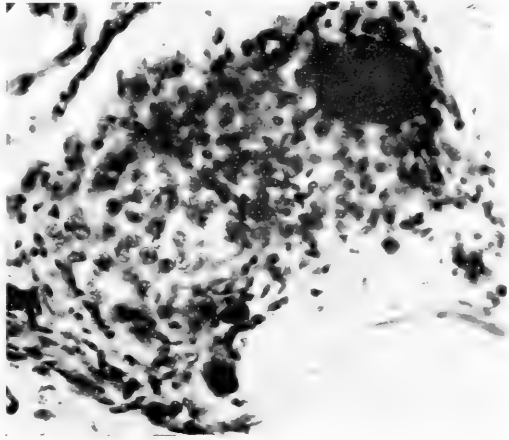


Abb. 2. Nebenzirbel der Meerkatze, mit Pigmentmassen in der Kapsel. Zeiss Apochr. 4 mm. Pr. Oc. 4.

ständige Zerstörung der Zirbeldrüse bei der Ratte erweist demnach, daß das Pinealorgan nicht lebenswichtig ist und wenigstens für unser Versuchstier sein Verlust weder nachweisbare Veränderungen in der Fettentwicklung bedingt noch eine sexuelle Frühreife, insoweit sie sich überhaupt an solchen Tieren nachweisen läßt. Und wenn man das histologische Bild als bezeichnend für die Tätigkeit der Drüsen mit innerer Sekretion hält, so läßt sich an diesen wie auch an anderen Drüsen keine Abweichung von der Norm finden.

Unsere Untersuchungsergebnisse stehen im Gegensatz zu den Befunden Foás. Wir glauben ihnen aber um so mehr Bedeutung beimessen zu können, als wir über genaue histologische Belege verfügen und an Tieren operierten, die noch jünger waren als die des italienischen Autors, und die Erscheinungen des Zirbelausfalles der Frühreife und des Fettansatzes noch deutlicher hätten aufweisen müssen. Wie schon erwähnt,

sind *Exner* und *Böse*, wenn auch nur an wenigen Versuchstieren zu einem ähnlichen Resultat gelangt und auch *Dandy* kommt auf Grund seiner Extirpationsversuche zu dem Schluß, daß zwischen zirbellosen und Kontrolltieren keinerlei Unterschied feststellbar war. Die Erhärtung dieser Tatsachen durch unsere Untersuchungsergebnisse erscheinen uns deshalb wichtig, weil die positiven Befunde *Foás* in der Literatur als Stütze oder experimenteller Beweis für die Deutung gewisser klinischer Symptombilder als Folge eines bestehenden A- oder Hypopinealismus angeführt werden.

In einer zweiten Versuchsreihe unternahmen wir es, den Einfluß der Kastration auf die Zirbeldrüsen festzustellen. Auch diesbezüglich liegen verschiedene Ansichten vor. *Biach* und *Hulles* fanden an ihren Kastraten (Katzen) eine histologische nachweisbare Atrophie dieses Organes. *Aschner* hält die Reduktion des Zirbelgewebes nach Entfernung der Geschlechtsdrüsen für so ausgeprägt, daß er sie sogar für makroskopisch erkennbar hält, *Pellegini* hingegen findet nach der Kastration eher eine Hypertrophie der spezifischen Pinealzellen.

Von den 6 Tieren dieser Untersuchungsreihe waren 4 im Gewicht von 42 g und 2 im Gewicht von 60 g kastriert worden. Von einer weiteren Ausdehnung der Versuche konnte wegen Gleichartigkeit der erhobenen Befunde abgesehen werden. 12–15 Wochen nach der Kastration wurden die Tiere getötet und das Gehirn in eine vollständige Sagittalserie zerlegt. *Makroskopisch fielen uns keinerlei Differenzen auf, aber auch die mikroskopische Untersuchung ergab nichts, was auf eine Schädigung der Zirbeldrüse durch den Wegfall der Keimdrüsenhormone hätten schließen lassen.* Weder eine Zelldegeneration noch eine Vakuolenbildung oder Vermehrung des interstitiellen Gewebes gegenüber der Norm ließ sich nachweisen. Ein Urteil darüber, ob die Pinealzellen mit *Pellegrini* nach der Kastration vermehrt sind, läßt sich bei dem Reichtum des Normaltieres an spezifischen Zellen auch nicht abgeben. Die Tatsache, daß das Zirbelparenchym wenigstens im Großteil bis ins Alter erhalten bleibt (*Krabbe*, *Schlesinger*) — auch wir hatten übrigens bei einer altersschwachen, 23 Monate in Gefangenschaft gehaltenen männlichen Ratte kaum Veränderungen der Zirbel gefunden — drängte naturgemäß dazu, das Pinealorgan mit einer Funktion in Beziehung zu bringen, die nicht besonders an bestimmte Lebensperioden gebunden ist. So glaubt *Marburg* in der Zirbeldrüse einen wesentlichen Faktor der Wärmeregulierung durch Einfluß auf das Hautgefäßsystem zu sehen; *Walter* hält die Zirbel für ein Reflexorgan, das die Sekretion des Liquors beherrscht. Äußere Form mit Größenveränderung waren andererseits Anhaltspunkte für *Aschner*, um daraus einen Einfluß der Gravität auf die Zirbeldrüse feststellen zu können. Er stellte der kegelförmigen Form der Nullipara die plumpe, kugelige Gestalt der Zirbeldrüse bei einem



graviden Individuum gegenüber. Aber ebensowenig wie die von *Aschner* beschriebene Kalkvermehrung während der Gravidität in der Zirbel mit Sicherheit festgestellt werden kann, ebensowenig Bedeutung glauben wir der äußeren Formveränderung dieses Organes, die auch nicht konstant eintritt, zuschreiben zu können. Und auch histologisch läßt sich zwischen einem graviden und einem gleichaltrigen Individuum keine

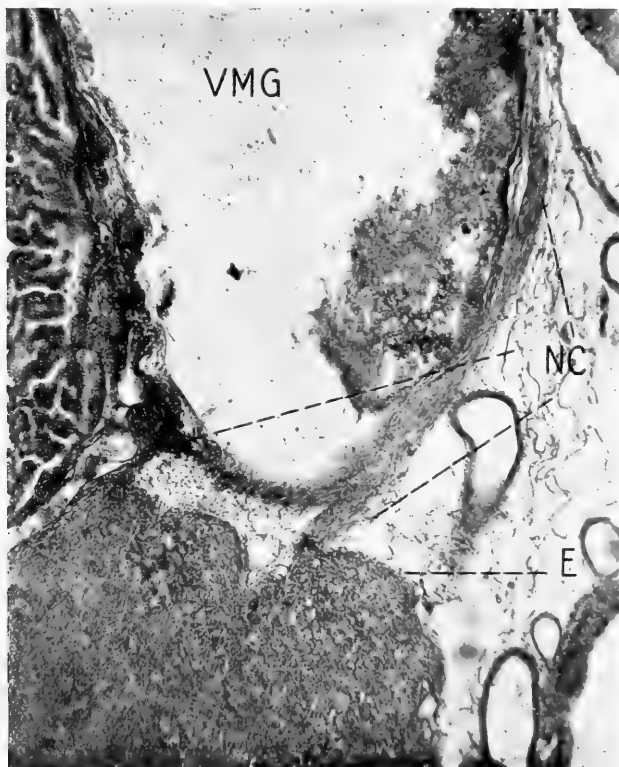


Abb. 3. Sagittalschnitt des Hirnes eines in situ vermittelst Durchspülung fixierten Hirnes eines sechs Monate alten Jagdhundes. E caudaler Pol der Epiphyse, NC Nervus conarii längsgetroffen Reichert 2, Proj. Oc. 4.

Differenz nachweisen. Auch sonstige Schwangerschaftselemente sind in der Zirbel nicht aufzufinden. Die Größe der Zirbeldrüse weist innerhalb der Tierreihe ziemlich weitgehende Differenzen auf (*Kreuzfeldt, Krabbe, Marburg*). Jedoch sei hier auch betont, worauf schon *Uemura* verweist, daß aus der relativen Größe des Organs noch kein Schluß auf die Reichhaltigkeit des spezifischen Parenchyms gezogen werden kann. So sieht man bei der relativ großen Zirbel des Pferdes nur mäßiges Parenchym in Follikeln angeordnet, welche durch breite Bindegewebs-

lagen voneinander getrennt sind. Relativ klein ist die Zirbel beim Elefanten, sehr stark reduziert bei *Dasypus* und *Phocaena*. Aber auch die Insektivoren haben, wie auch *Marburg* hervorhebt, eine absolut sehr kleine Zirbeldrüse. Wir wollen später darauf noch zurückkommen.

War es uns im Experiment nicht gelungen, einen Einblick in die Funktion der Zirbeldrüse zu erlangen, waren wir sogar gezwungen, für

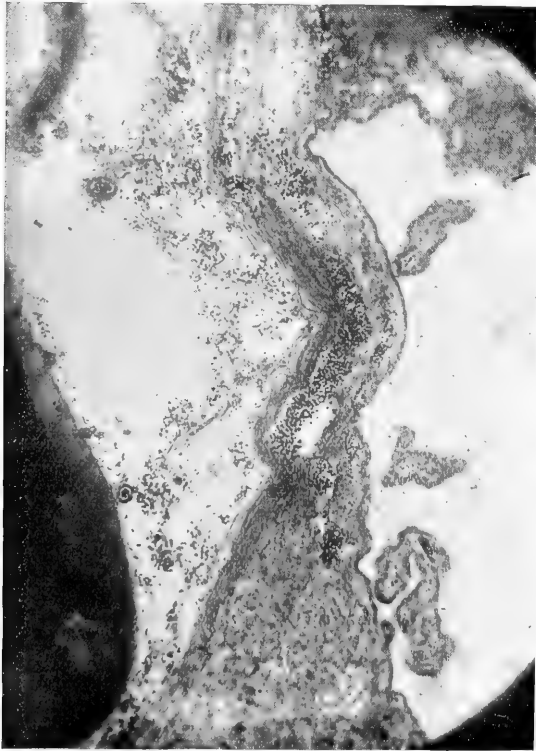


Abb. 4. Sagittalschnitt von *Cercopithecus* (Meerkatze), sonst wie bei Abb. 3.

unser Versuchstier, die Ratte, die bisher supponierten Hormonwirkungen abzulehnen, so wollen wir an der Hand von anatomischen Tatsachen den Versuch unternehmen, eine funktionelle Beziehung dieses Organes festzustellen. Von besonderem Belange in dieser Hinsicht schien uns der von uns erbrachte Nachweis von Nervenzügen, welche eine Verbindung der Zirbel mit dem System der Vena magna galeni bewirken. Bevor wir aber darauf näher eingehen, sei an der Hand eines Präparates von *Papio* das bisher Bekannte über die nervösen Beziehungen der Zirbel zusammengefaßt.

Es treten von der Commissura habenulae und posterior in den vorderen Anteil der Zirbel Fasern ein, die sich im Parenchym verlieren und, wie *Walter* beschrieb mit den Pinealzellen und den Randflechten in Beziehungen treten. Den obenerwähnten Faserzug, welcher eine Verbindung der Zirbel mit den Venensystem der Vena magna Galeni herstellt, wollen wir an der Hand einer Sagittalseerie eines dreimonatlichen Ziegenbocks in seinem Verlauf genau beschreiben (S. Abb. 5).

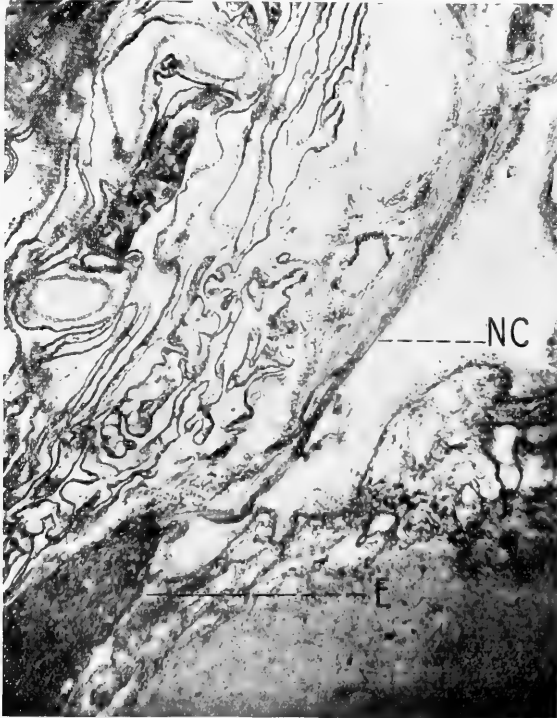


Abb. 5. Sagittalschnitt des Hirnes eines durchspülten drei Monate alten Böckleins, sonst wie Abb. 1. VMG Vena magna galeni.

An einer Reihe von Schnitten fanden wir unterhalb des die Zirbel einhüllenden Bindegewebes sowohl oben und unten ein Nervenstämmchen, das, am hinteren Pol des Pinealorganes austretend, sich dicht an die Wurzel der Vena magna galeni anschließt und bis zum Tentorium zu verfolgen ist. An diesem Tier waren die Fasern noch marklos und daher sehr leicht von jenem Fasersystem der Commissura posterior oder habenulae, die bereits markhaltig waren, zu unterscheiden. Ähnliche Systeme, teilweise markhaltige Fasern enthaltend, fanden wir beim Hund (s. Abb.), bei der Meerkatze und, wenn auch schwächer und in ihrem Verlauf vorläufig noch nicht gut verfolgbare, auch in derselben Gegend beim Menschen aus der

Zirbel austreten. *Diese Nervenbündel, die wir für vollkommen different von dem in der Gegend der Commissura habenulae entspringenden Nervus parietalis Marburgs halten, möchten wir vorläufig als Nervus conarii bezeichnen.* Vielleicht haben wir hier in diesen Nervenbündeln einen weit verbreiteten dorsalen Hirnnerven der Säuger vor uns, der aber nicht wie der von *Marburg* bei der Antilope beschriebene Nervus parietalis mit den Parietalnerven der Reptilien homologen Ursprung zeigt. Nicht beim reifen Individuum, aber bei menschlichen Embryonen scheint schon *Hochstetter* diesen Nerven gesehen zu haben. Die Kleinheit und Zartheit des *Nervus conarii*, sein Verlauf in einer von Bindegewebe und Gefäßen ausgefüllten Region, deren topographische Beziehungen bei jeglicher Präparation des Gehirnes sehr leicht gestört werden können, machen es erklärlich, daß der Nachweis dieser Nervenbündel nur an dem in Situ gehärteten Gehirn und in vollständiger Sagittalserie zu erbringen ist. Ähnlichen Schwierigkeiten zufolge hat sich ja auch der Nachweis des Nervus primus oder Nervus terminalis bei den Säugern solange verzögert. Ob dieser Nerv zentrifugal oder zentripetal leitet, können wir vorläufig noch nicht sagen. Doch scheint die Tatsache, daß wir in der Nähe der Nervenstämmchen in der Zirbel Ganglienzellen, die eine gewisse Ähnlichkeit mit den sympathischen aufweisen, sahen, dafür zu sprechen, daß efferente Fasern vorliegen. Besonders muß hervorgehoben werden, daß die von uns beobachteten teilweise recht ansehnlichen Nervenstämmchen bei erwachsenen Tieren markhaltige Nervenfasern mit Schwannschen Scheiden besitzen.

Der Umstand, daß unser Nervus conarii mit jenem Venensystem in Verbindung tritt, in welches die Venen der Plexus chorioidei, die als Bildner des Liquors gelten, eintreten, muß den Gedanken aufdrängen, in der Zirbel und in dem hier besprochenen Nerven ein System zu vermuten, welches die Zirkulationsverhältnisse in den Plexus und damit die Liquorsekretion beeinflussen könnte.

Beziehungen zwischen Zirbeldrüse, Liquorströmung und Liquorsekretion wurden schon von anderer Seite angenommen. Die Ansicht *Cyons* von der mechanischen Beeinflussung der Liquorströmung durch die Zirbelbewegungen muß wohl abgelehnt werden. *Walter* kam auf Grund histologischer Erwägungen, deren Hauptstütze der von ihm erbrachte Nachweis von Hypo- bzw. Aplasie der Zirbel in wenigen Fällen von angeborenem Hydrocephalus internus bildete, zur Annahme, daß die Zirbel ein Reflexorgan für die Liquorsekretion darstellt. Diese Befunde *Walters* beim Hydrocephalus, die sicherlich nur äußerst selten erhoben werden können, sind wohl nicht als vollwertiger Beweis für die Richtigkeit seiner Annahme anzusehen.

Die, wie erwähnt, von uns vorläufig bei einigen höheren Säugern gefundenen nervösen Verbindungen zwischen der Zirbeldrüse und den

abführenden Venen des Plexus rechtfertigt die Annahme, daß dem Pinealorgan durch Einflußnahme auf die Zirkulationsgröße bei diesen Tieren vielleicht indirekt ein Einfluß auf die Liquorproduktion zusteht. Wenn es gestattet ist, bei Erörterung eines hypothetischen physiologischen Vorganges vergleichend anatomische Befunde heranzuziehen, so sei darauf hingewiesen, daß bei Insektivoren, worauf auch schon Marburg aufmerksam machte, eine besonders kleine und parenchymarme Zirbel sich vorfindet. Bei *Sorex* finden wir nun aber auch einen vollkommenen Verschuß des Zentralkanales vom *Calamus scriptorius* abwärts, fast keinen vierten Ventrikel, und die Seitenventrikel, ebenso der Aquädukt, haben nur den Wert von engen Spalträumen. Bei *Erinaceus* ist ebenfalls die geringe Ausbildung der Ventrikel und der Plexus in die Augen springend. Nicht so deutlich liegen die Verhältnisse bei *Talpa*. In dem Zusammentreffen dieser anatomischen Tatsachen, kleine Zirbel geringe Plexus und Ventrikelausbildung sehen wir vielleicht auch einen Hinweis darauf, daß die *Liquorsekretion in der Zirbel einen Regulationsapparat hat, der wenigstens für einige Säugergruppen auf dem Wege des von uns nachgewiesenen Nervus conarii wirken kann.*

Damit ist keineswegs die Funktion der Zirbeldrüse erschöpft. Wir müssen in ihr vielmehr ein funktionell komplexes Organ sehen, dem vielleicht bei einzelnen Tieren auch eine leichter nachweisbare Hormonwirkung zukommt. Je nachdem die eine oder die andere Komponente in diesem komplexen Organ hervortritt, ist damit wohl die bei den einzelnen Tierarten eigenartige morphologische Ausbildung oder hochgradige Rückbildung des Organes zu erklären.

### Literaturverzeichnis.

- Aschner, B.*, Schwangerschaftsveränderungen der Zirbeldrüse. Zentralbl. f. Gynäkol. u. Geburtsh. **1**, 774. 1913. — *Aschner, B.*, Praktische Folgerungen der Lehre von der inneren Sekretion. Praktische Ergebnisse für Geburtsh. u. Gynäkol. Jahrg. 7, Heft 1, 1916, S. 47. — *Askanazy, M.*, Chemische Ursachen und morpholog. Wirkungen bei Geschwulstkranken, insbes. über sexuelle Frühreife. Zeitschr. f. Krebsforsch. **9**, 3. 1910. — *Askanazy, M.*, Die Zirbel und ihre Tumoren in ihrem funktionellen Einfluß. Frankf. Zeitschr. f. Pathol. **24**, 58. 1920. — *Askanazy, M.* und *W. Brach*, Sexuelle Frühreife bei einer Idiotin mit Hypoplasie der Zirbel. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **234**, 1. — *Creutzfeld, H. G.*, Über das Fehlen der Epiphysis cerebri bei einigen Säugern. Anat. Anz. **43**, 517. 1913. — *Brach* und *Hulles*, Über die Beziehungen der Zirbeldrüse zum Genitale. Wien. klin. Wochenschr. 1912. S. 373. — *Cyon*, Zur Physiologie der Zirbeldrüse. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **98**, 327. 1903. — *Dandy, W. E.*, Extirpation of the pineal body. Journ. of exper. Med. **22**, 223. 1915. — *Exner, A.* und *Böse, I.*, Über experimentelle Exstirpation der *Gladula pinealis*. Dtsch. Zeitschr. f. Chirurg. **107**, 182. 1910. — *Foá Carlo*, Hypertrophie des testicules et de la crête apres l'extirpation de la glande pineale chez de coq. Arch. it. de biol. **57**, 233. 1912. — *Foá Carlo*, Nouvelles recherches sur la fonction de la glande pineale. Arch. it. biol. **61**, 79. 1914. — *Fraenkel, Ludwig*, Wirkung von Extrakten endokriner Drüsen auf die

Kopfgefäße. Münch. med. Wochenschr. 1914, Nr. 40, S. 2036. — *Frankl-Hochwart*, Über die Diagnose der Zirbeldrüsentumoren. Dtsch. Zeitschr. f. Nervenheilk. **37**, 455. 1909. — *Hochstetter*, Über die Entwicklung der Zirbeldrüse des Menschen. Anat. Anz. **54**, Erg. S. 193. 1921. — *Krabbe*, Histologische und embryologische Untersuchungen über die Zirbeldrüse. Anat. Hefte **54**, 191. 1916. — *Krabbe*, Bidrag til Kungskaben om Corpus Pineale Hos Pattedyrene. Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab. Biol. Med. **2**, 2. 1920. — *Mc Cord*, The pineal gland in relation to somatic, sexual and mental development. The Journ. of the am. med. Ass. **63**, 232. 1914; **65**, II, 517. 1915. — *Marburg*, Zur Kenntnis der normalen und pathologischen Histologie der Zirbeldrüse. Die Adipositas cerebri. Arb. a. d. Neur. Inst. an der Wr. Un. **12**, H. 2, 217. 1908. — *Marburg*, Die Klinik der Zirbeldrüsenkrankungen. Erg. d. inn. Med. und Kinderheilk. **19**, 146. 1913. — *Marburg*, Neue Studien über die Zirbeldrüse. Arb. aus d. Neur. Inst. **23**, 1. 1920. — *Meyer, W.*, Über hypophysäre und epiphysäre Störungen bei Hydrocephalus. Z. f. d. ges. Neurol. u. Psychol. **44**, 101. 1919. — *Pellegrini*, Gli affetti della castrazione nella ghiandola pineale. Arch. per le scienze mediche **385**, 121. 1914. — *Sarteschi*, Ricerche istologiche sulla glandula pineale. Fol. neurobiol. **4**, 675. 1910. — *Schlesinger*, Über die Zirbeldrüse im Alter. Arb. aus d. Wien. neurol. Inst. **22**, 18. 1917. — *Walter, R. K.*, Beiträge zur Histologie der menschlichen Zirbeldrüse. Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychol. **17**, 65. 1913. — *Walter, R. K.*, Über die normale und pathol. Histologie der Zirbeldrüse. Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psych. **18**, 269. 1914. — *Zandén Swen*, Ein Beitrag zum Studium der Funktion der Zirbeldrüse. Acta med. scandinav. **54**, 323. 1921.

---

# Über den Mechanismus von Hämolyse und Agglutination durch Ionen<sup>1)</sup>.

Von  
**F. Haffner.**

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität München.)

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 19. April 1922.)

Die Erscheinungen der Agglutination, der Fixierung und der Auflösung der Zellen sind bei allen möglichen Zellarten zu beobachten und werden in vivo wie in vitro durch die verschiedenartigsten physikalischen, chemischen und biogenen Agentien hervorgerufen. Es können ihnen daher auch nur Veränderungen allgemeiner Natur an den einfachsten, den verschiedenen Zellarten gemeinsamen Strukturelementen zugrunde liegen. Der Mechanismus der meisten in diesen Richtungen wirkenden Agentien ist in seinen Hauptpunkten noch ungeklärt. Dies gilt selbst für so einfache chemische Agentien wie H<sup>+</sup>-, OH<sup>-</sup>- und Metallionen. Einblick in den Komplex der an den Zellen sich abspielenden Vorgänge war am ehesten von einer Analyse der Wirkung dieser einfachen Ionen zu erwarten, deren physikalische und chemische Reaktionsmöglichkeiten heute einigermaßen zu überblicken sind. Eine Klärung des Wirkungsmechanismus dieser Stoffe hatte außerdem ein speziell pharmakologisches Interesse, da ihre Zellwirkungen in Form von Adstringierung, Entzündung, Ätzung, Desinfizierung und Fixierung praktisch so vielfache Bedeutung besitzen. Versuche in dieser Richtung wurden an roten Blutkörperchen angestellt, den klassischen Objekten zur Untersuchung von akuten Zellwirkungen im Reagensglas. In erster Linie mußte der Mechanismus der ubiquitären H<sup>+</sup>- und OH<sup>-</sup>-Ionen interessieren; über ihre große Bedeutung für das Verhalten der Blutkörperchen konnte in letzter Zeit *Jodlbauer* mit mehreren Mitarbeitern eine Reihe neuer Beobachtungen mitteilen<sup>2)</sup>. Die Wirkungsweise der Kationen wurde außerdem an Metallsalzen untersucht, über deren Wirkung auf Blutkörperchen ja bereits eine Reihe eingehender Untersuchun-

<sup>1)</sup> Die Hauptergebnisse wurden auf der Tagung der Dtsch. Pharmakol. Ges. im Sept. 1921 in Freiburg vorgetragen.

<sup>2)</sup> *Jodlbauer* und *Haffner*, Arch. f. d. ges. Physiol. **179**, 121 u. 134. 1920; *Haffner*, Arch. f. d. ges. Physiol. **179**, 140 u. 144. 1920; ferner die Dissertationen von *Sumpf*, München 1919, *Haid* 1919, *Grabinger* 1919, *Kerner* 1920, *Hug* 1920, *Moser* 1920, *Glogger* 1921.

gen vorliegt<sup>1)</sup>. Zur Untersuchung des Anionenmechanismus stehen außer den OH'-Ionen nur wenige genügend stark wirkende Elektrolyte zur Verfügung; die stark wirkenden Farbstoffsalze der Fluoresceingruppe, über deren Wirkungsweise als Anionen bereits berichtet worden ist<sup>2)</sup>, wurden daher in erster Linie auch für die weiteren Versuche benutzt. Gelegentlich kamen dazu auch noch andere Ionen, z. B. Anionen organischer Säuren. Die Kationen kamen als Chloride, die Anionen als Natriumsalze zur Verwendung. Ziemlich gleichwertig erwiesen sich übrigens Verbindungen mit anderen auf Zellen wenig wirksamen Ionen, so der Kationen mit NO<sub>3</sub>' , CH<sub>3</sub>COO' , der Anionen mit K' , Li'. In der Regel wurden mit Kochsalzlösung gewaschene Rinderblutkörperchen verwendet; bei einzelnen vergleichenden Versuchen mit Pferde- und Hammelblutkörperchen wurden im Prinzip dieselben Verhältnisse gefunden.

### I. Die Wirkungsbilder der Ionen.

#### a) Wirkung in 0,9 Proz. Kochsalzlösung.

Vergleicht man die Wirkungsbilder, die sich ergeben, wenn wässrige Lösungen der erwähnten Elektrolyte auf Blutkörperchensuspensionen in 0,9% Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur zur Einwirkung gebracht werden, so fällt sofort ein durchgehender Unterschied zwischen den Verbindungen mit wirksamem Anion und denen mit wirksamem Kation auf.

Die *Wirkungsbilder der Anionen* sind einfach und untereinander ganz gleichartig (s. die Versuche mit Natronlauge Tab. 1, ölsäurem Natr. Tab. 3 und mit Rose bengale, dem Natriumsalz des Tetraajodtetrachlorfluoresceins Tab. 2). Jeweils von einer bestimmten Konzentration an tritt Hämolyse ein. Zur vollständigen Auflösung einer 1 Proz. Blutkörperchensuspension ist von Natronlauge eine Gesamtkonzentration von  $\frac{1}{1200}$  molar im Gemenge notwendig (bei 10% Blutkörperchensuspension  $\frac{1}{200}$  mol.); von Rose bengale genügt  $\frac{1}{12\ 000}$  mol.

Der bei Zimmertemperatur nach etwa 24 Stunden erreichte Stand ändert sich bei Vermeidung von Fäulnis auch nach Tagen nicht mehr wesentlich, die Ablesung nach 24 Stunden wurde daher im allgemeinen als endgültiges Ergebnis betrachtet. Bei Bestimmung der Konzentrationswerte für *vollständige* Lyse wurde zu ganz verschiedenen Zeiten und bei Blut verschiedener Herkunft weitgehendste Übereinstimmung gefunden. Die in der Literatur vielfach angegebenen „*eben merklich*“ lysierenden Konzentrationen variierten dagegen bei verschiedenen Versuchen zum Teil erheblich, wahrscheinlich deshalb, weil diese stark wirkenden Stoffe äußerst

<sup>1)</sup> Es sei hier besonders auf folgende vergleichende Untersuchungen verwiesen: *Hirschfeld*, Arch. f. Hyg. **63**, 237. 1907; *Dunin-Borkowski* und *Szzymanowski*, Anz. d. Akad. d. Wissensch. in Krakau, S. 746, 1909, *Arrhenius*, Hygieia Festband I N. 4, S. 1. 1908; *Eisenberg*, Zentralbl. f. Bakteriologie, **69**, 173. 1913; *Kobert*, Sitzungsbericht u. Abh. d. Naturforsch. Ges. zu Rostock N.F. **6**, 281. 1915, und *Abderhaldens Handb. d. Biochem. Arbeitsmeth.* **9**, 24.

<sup>2)</sup> *Jodlbauer* und *Haffner*, Arch. f. d. ges. Physiol. **189**, 243. 1921.



rasch mit den Körperchen in Reaktion treten, und daher bei der Mischung von Blut und Substanzlösung die zuerst mit der Substanzlösung in Berührung kommenden Körperchen stärker betroffen werden. — Dies gilt alles auch für die Kationen.

Agglutination und Fixierung sind bei Anionen selbst in molaren Konzentrationen noch nicht zu beobachten, Farbänderungen der Blutmischung sind nur bei OH' festzustellen. Die hellrote Farbe des Oxyhämoglobins wird dunkelrot, in höherer Konzentration mit bräunlichem Ton; spektroskopisch erscheinen die Absorptionsstreifen des in alkalischer Lösung befindlichen *Hämatins*<sup>1)</sup> (neben zwei, den beiden O<sub>2</sub>-Hb-Streifen entsprechenden Bändern ein unscharf begrenzter Streifen im Rot, entsprechend der D-Linie, sich eng an den ersten O<sub>2</sub>-Hb-Streifen anschließend). Diese Hämatinbildung tritt selbst bei 1/25 mol. NaOH erst nach vollständiger Auflösung der Körperchen ein. Nach 3 Stunden zeigen die nächsten Verdünnungen erst eine teilweise Farbstoff-Umwandlung, von 1/100 mol. an ist keine Spur einer Farbänderung zu sehen. Nach mehreren Tagen ist allerdings im ganzen Lysebereich eine geringe Hämatinbildung nachzuweisen, doch ist sie auch jetzt erst von 1/50 mol. an maximal. *Die Hämatinbildung ist also sicher keine Vorbedingung für den Lyseeintritt.*

Abwechslungsreicher sind die *Wirkungserscheinungen* bei Kationen, wie die Beispiele mit H', Hg'', Fe'', Al'', Ag', Cu'', Zn'' (Tab. 4—7) zeigen. Neben Lyse treten Agglutinations-, Fixierungserscheinungen und Verfärbungen auf. Immer geht dabei die *lytische Wirkung* mit Zunahme der Substanzkonzentration allmählich in eine fixierende über. Dadurch kommt es zu einem Optimum der Lyse bei mittlerer Konzentration. Bei überoptimalen Konzentrationen erfolgt die Lyse verzögert bzw. wird sie nicht mehr vollständig und bleibt schließlich ganz aus, wie dies ja schon vielfach beschrieben worden ist<sup>2)</sup>. Mit dem vollständigen Ausbleiben der Lyse ist zugleich eine vollständige Resistenz der Körperchen gegen destilliertes Wasser eingetreten. Dieser Punkt ist im folgenden mit *Fixierung* bezeichnet. Die lytische und die fixierende Wirksamkeit ist bei den einzelnen Ionen recht verschieden stark ausgebildet. HgCl<sub>2</sub> z. B. lysiert bei 1 proz. Blutkörperchensuspension von 1/100 000 mol. an und fixiert erst von 1/200—1/400 mol. an; ausgesprochene Agglutination fehlt *in allen Konzentrationen*. Zinksalze dagegen zeigen nur fixierende und agglutinierende Wirkung. Der Vergleich der verschiedenen Kationen zeigt jedoch, daß die Unterschiede nur gradueller Natur sind. Im allgemeinen tritt die lytische Wirkung gegenüber der fixierenden um so mehr hervor, je edler das Metall ist. An die Edelmetalle<sup>3)</sup> schließt das

<sup>1)</sup> Vgl. *Hoppe-Seyler*, Chem. Analyse 7. A., S. 278, 1903; *Nagels* Handb. d. Physiol., Ergänzungsband S. 50. 1910.

<sup>2)</sup> Vgl. z. B. bezügl. der Hg-Wirkung *Sachs*, Wien. klin. Wochenschr. 18, 35. 1905.

<sup>3)</sup> Über die starke lytische Wirkung der Edelmetallsalze s. u. a. *Hatziwassilju*, Inaug.-Diss. München 1914.

Wasserstoffion an, das erst in mehrfach molarer Konzentration fixiert. Dieser Gegensätzlichkeit von Lyse und Fixierung ganz analoge Wirkungsunterschiede zeigen die Metallsalze ja auch gegenüber anderen Objekten. Es sei hier nur an *Schmiedebergs* Einreihung der Metalle zwischen das am stärksten adstringierende Pb und das am stärksten ätzende Hg erinnert, ferner an die Ergebnisse von *J. Loeb* u. a. über die Fähigkeit von Metallsalzen, die als eine Verflüssigungswirkung aufgefaßte Giftigkeit reiner Kochsalzlösung auf tierische Zellen aufzuheben. Während dies z. B. mit Zink- und Bleisalzen gelingt, sind Quecksilbersalze, zum Teil auch Kupfersalze hierzu nicht imstande<sup>1)</sup>. Die am stärksten lysierenden Ionen sind auch sonst am giftigsten<sup>2)</sup>.

Den Säuren und Metallsalzen gemeinsam sind ferner Verfärbungen der Blutmischung. Es finden sich alle Übergänge vom Rot des Oxyhämoglobins zu reinem Braun. Spektroskopisch zeigt sich der für das *Hämatin* in saurer Lösung charakteristische Absorptionsstreifen im Rot nahe der C-Linie. In den rotbraunen Mischungen sind daneben noch die beiden O<sub>2</sub>-Hb-Streifen vorhanden, in den maximal-braunen fehlen sie ganz. Die Hämatinbildung ist wie die lytische Wirkung am stärksten beim Wasserstoffion ausgeprägt. Im Gegensatz zur Hämatinbildung durch OH' tritt die Bildung des braunen Hämamins in enger Verknüpfung mit der Lyse ein; sie wird z. B. bei H' im ganzen Lysebereich nach kurzer Zeit maximal. Unter Bedingungen, die eine Lyseverzögerung mit sich bringen, wie z. B. Anwesenheit gewisser Anionen (s. darüber später), tritt durch H' schon innerhalb der Körperchen starke Hämatinbildung ein. Bei Wegfall solcher Lysehemmungen (z. B. bei Hämolyse 1 proz. Blutkörperchensuspension durch HCl in Kochsalzlösung) läßt sich jedoch vollständige Lyse feststellen, ehe sich Hämatin in erheblichem Umfange gebildet hat. Bei weniger stark hämatinbildenden Metallsalzen wie Sublimat ist noch deutlicher zu sehen, daß auch bei den Kationen lytische und hämatinbildende Wirkung zwei selbständige Vorgänge sind (Tab. 5). Zu erwähnen ist noch, daß in den lytisch gewordenen und maximal braun verfärbten Mischungen einige Zeit nach der Lyse braune, sehr lockere Flocken ausfallen.

Besondere Betrachtung bedürfen die *Agglutinationserscheinungen*. Sie sind in allen Graden zu beobachten von der Bildung grober makroskopischer Flocken bis zu einer nur noch mikroskopisch sichtbaren trauben- oder reihenförmigen Aneinanderlagerung der Körperchen. Je stärker die Agglutination um so rascher ist im allgemeinen auch die Senkungsgeschwindigkeit. Die verschiedenen Agglutinationsstärken kommen sehr deutlich auch an dem beim Absitzen der Körperchen im Reagensglas sich bildenden Bodensatz zum Ausdruck, wenigstens bei

<sup>1)</sup> Vgl. *Höber*, Physikalische Chem. d. Zelle u. d. Gewebe, 4. A., S. 527 u. 532.1914.

<sup>2)</sup> Vgl. *Höber*, loc. cit. S. 485.

Verwendung nicht zu großer Blutkörperchenmengen: scharf abgesetzte Kuppe bei normalen Körperchen, mit Zunahme der Agglutination immer stärkere Umwandlung der Kuppe in einen ausgebreiteten grieseligen Niederschlag; die schwächsten Agglutinationsgrade sind auf diese Weise noch sehr scharf zu erkennen und die Unterschiede sind sehr fein abgestuft (Ableseung nach 12 Stunden!).

In allen Fällen, in denen Fixierung der Körperchen eintritt, sind auch Agglutinationserscheinungen zu beobachten. Sie sind im allgemeinen schon bei etwas niedrigeren Konzentrationen vorhanden, als zur vollständigen Fixierung notwendig sind; sie sind in diesem Übergangsbereich sogar am stärksten und nehmen bei weiterer Konzentrationszunahme wieder ab. Zum Teil, wie beim Zn<sup>++</sup>, zeigen sie sich in sehr starker Flockenbildung, bei anderen dagegen z. B. beim Hg<sup>++</sup> sind sie nur eben angedeutet.

Bei einigen Salzen wie denen des Kupfers und besonders denen der dreiwertigen Ionen Fe<sup>+++</sup> und Al<sup>+++</sup> tritt Agglutination nicht allein im oder nahe beim Fixierungsbereich auf, sondern auch noch in sehr viel niedrigeren (bei FeCl<sub>3</sub> z. B. sogar am stärksten in 500 mal geringerer) Konzentrationen, sogar noch unterhalb der lysierenden. Bei diesen Substanzen stellt die Agglutination das erste Zeichen einer Substanzwirkung dar. Im Lysebereich geht zum Teil der Lyse eine Agglutination der Körperchen voraus. Die Agglutination durch diese sehr niederen Ionenkonzentrationen hat offensichtlich mit der erst bei viel höheren Konzentrationen eintretenden Fixierung der Körperchen nichts zu tun.

Wenn sich bei den verschiedenen Kationen auch kein so gleichartiger Wirkungstypus gezeigt hat, wie bei den untersuchten Anionen, so läßt sich doch immerhin ein einfaches Schema aufstellen, in welches die verschiedenen Wirkungen der Kationen eingeordnet werden können. Der schwächste Wirkungsgrad ist in der ohne Fixierung einhergehenden Agglutination niederster Konzentrationen gewisser Ionen zu erblicken, dann folgt die mehr oder weniger allgemein vorhandene Lysewirkung und eng anschließend die Hämatinbildung, schließlich die Fixierung und die mit ihr verknüpfte Agglutination. Anionen- und Kationenwirkung lassen sich somit schematisierend etwa in folgender Weise einander gegenüberstellen:

*Schema der Anion- und Kationwirkung auf rote Blutkörperchen.*

Im Konzentrationsbereich:  $\frac{1}{100\,000}$  mol. . . . .  $\frac{1}{12}$  mol.

Anionen:	Aggl.	-----
	Lyse	---+++++
	Hämat.	-----+++++
	Fix.	-----
Kationen:	Aggl.	---++++-++++-
	Lyse	---+++++
	Hämat.	---+++++
	Fix.	-----+++++

b) Die Beziehung von Aufnahme und Wirkung.

Bisher war für die Wirkung die Gesamtkonzentration der zu der Zellsuspension zugesetzten Ionen in Betracht gezogen worden. Wie teils aus direkten Analysen, teils aus den Ergebnissen indirekter Methoden zu schließen ist, kommt es durch Aufnahme bzw. Reaktion der wirksamen Ionen mit den Zellen zu einem schließlichen Gleichgewichtszustand zwischen der in der Außenlösung verbleibenden und der durch die Zellen aufgenommenen Substanzkonzentration<sup>1)</sup>. Hierbei ist bei Hg<sup>2)</sup> und bei dem Rose bengale-Anion<sup>3)</sup> das Adsorptionsgesetz maßgebend gefunden worden — wenigstens innerhalb eines größeren Konzentrationsbereichs, — woraus jedoch über die Natur des Aufnahmevorgangs nichts geschlossen werden kann<sup>4)</sup>. Die Aufnahme erfolgt bei diesen stark wirkenden Substanzen so rasch, daß, wie für Rose bengale bereits mitgeteilt wurde und wie es sich in gleicher Weise auch für Sublimat zeigen ließ, die Hämolyse durch optimal lysierende Konzentrationen gleich rasch (bei Sublimat etwa 4 Stunden nach Zusatz) erfolgt, ob die Körperchen dauernd in der Substanzlösung belassen oder innerhalb der ersten Viertelstunde nach Mischung wieder auszentrifugiert und in reine Kochsalzlösung übertragen werden.

Besonderes Interesse beanspruchten die Aufnahmeverhältnisse bei H' und OH'. Die Bestimmung der aufgenommenen Menge geschah durch elektrometrische Messung der Konzentration der freien H' in Blutkörperchensuspensionen nach abgestuften Zusätzen von HCl bzw. NaOH. Benutzt wurde die Elektrode von *Michaelis* mit stehender Gasblase in Schaltung gegen die „gesättigte Kalomelektrode“. Es kamen hierfür nur HCl- und NaOH-Mengen in Betracht, die in der zur Messung notwendigen Zeit noch nicht lysierten. Eine Messungsreihe ist untenstehend wiedergegeben.

Verteilung von H' und OH' zwischen Blutkörperchen und Außenlösung.

Gesamtkonzentration der zugesetzten Ionen (Mol im Liter)		Konzentration der 10 proz. Blutkörperchensuspension an freien Ionen (Mol im Liter)		Konzentration d. 10 proz. Lysats an freien Ionen (Mol im Liter)	
H'	OH'	H'	OH'	H'	OH'
$3 \cdot 10^{-3}$		$2,6 \cdot 10^{-6}$		$2,2 \cdot 10^{-6}$	
$2 \cdot 10^{-3}$		$5,6 \cdot 10^{-7}$		$4,8 \cdot 10^{-7}$	
$1 \cdot 10^{-3}$		$2,6 \cdot 10^{-7}$		$1,5 \cdot 10^{-7}$	
— ohne Zusatz		$1,8 \cdot 10^{-7}$		$5,3 \cdot 10^{-8}$	
	$1 \cdot 10^{-3}$		$4,8 \cdot 10^{-8}$		$1,6 \cdot 10^{-7}$
	$2 \cdot 10^{-3}$		$2,5 \cdot 10^{-7}$		$5,7 \cdot 10^{-7}$
	$3 \cdot 10^{-3}$		$8,0 \cdot 10^{-6}$		$5,1 \cdot 10^{-6}$
			$7,1 \cdot 10^{-5}$		$6,0 \cdot 10^{-5}$

<sup>1)</sup> Lit. bei *Arrhenius*, Erg. d. Physiol. **7**, 480ff. 1908, s. auch *Gros*, Biochem. Zeitschr. **29**, 352. 1910; *La Franca*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **48**, 481. 1906, und *Eisenberg* loc. cit.

<sup>2)</sup> *Morawitz*, Kolloid. Zeitschr. **6**, 259. 1910.

<sup>3)</sup> *Jodlbauer* und *Haffner*, Arch. f. ges. Physiol. **189**, 253. 1921.

<sup>4)</sup> Vgl. *Jodlbauer* und *Haffner*, Arch. f. d. ges. Physiol. **189**, 255.

In dem untersuchten Konzentrationsbereich beträgt die Konzentration der in der Außenlösung verbliebenen  $H'$  und  $OH'$  z. Teil nur  $1/10\,000$  bis  $1/1\,000$  der zugesetzten, so daß man, da die Suspensionslösung an sich kein Bindungsvermögen für  $H'$  oder  $OH'$  besaß, praktisch von einer vollständigen Aufnahme der zugesetzten (unterlytischen)  $H'$ - und  $OH'$ -Mengen reden kann. Die Aufnahme erfolgt sehr rasch, spätestens in der zur Einstellung des gemessenen Potentials an sich notwendigen Zeit; das Gleichgewicht ist jedenfalls mit großer Annäherung schon nach 15 Minuten erreicht. Zum Vergleich ist außerdem ein Parallelversuch mit durch Wasser lysierten Blutkörperchen aufgeführt, auf deren Bindungsvermögen für  $H'$  und  $OH'$  übrigens noch eingehender zurückgekommen werden wird. Bei den gleichen Zusätzen findet sich auch in den Lysaten dieselbe weitgehende Bindung. Wenn man den — regelmäßig vorhandenen — Unterschied der  $H'$ -Konzentration der beiden Ausgangslösungen (Blutkörperchensuspension und Lysat ohne Zusatz) berücksichtigt, so kommen beide Reihen einander sogar sehr nahe. Man darf hieraus wohl den Schluß ziehen, daß für die Verteilung von  $H'$  und  $OH'$  zwischen Außenlösung und Körperchen besondere (z. B. lipoide) Eigenschaften einer Zellmembran keine Bedeutung haben, sondern in der Hauptsache chemische bzw. kolloidchemische Gleichgewichte zwischen den Ionen und den Blutkörperchenbestandteilen maßgebend sind.

Wenn auch die Zellveränderung unmittelbar nur von dem aufgenommenen bzw. mit den Zellbestandteilen in Reaktion getretenen Ionen bestimmt wird, so erscheint es andererseits aus verschiedenen Gründen zweckmäßig, die Zellwirkung auf die zur aufgenommenen Menge in gesetzmäßigem Verhältnis stehende und elektrometrisch direkt meßbare Konzentration der freien  $H'$  in der Außenlösung zu beziehen. Aus zahlreichen diesbezüglichen Messungen an Blutkörperchensuspensionen mit  $HCl$ - und  $NaOH$ -Zusätzen ergab sich, daß Lyse eintritt, wenn die  $H'$ -Konzentration größer wird als  $1 \cdot 10^{-5}n$  ( $= 5,0 p_H$ ) und ebenso, wenn die  $OH'$ -Konzentration größer wird als  $8,5 p_H$  entspricht. Als Grenzen der vollständigen Lyse können im Mittel  $4,5 p_H$  und  $9,0-9,5 p_H$  gelten, was auch mit den vorliegenden Messungen von *Walbum*<sup>1)</sup> übereinstimmt. Zu ziemlich denselben Resultaten gelangt man auch, wenn man die Blutkörperchen in Puffergemischen (Phosphat, Glykokoll oder Acetat) verschiedener  $H'$ -Konzentration aufschwemmt. Um den sauren und den alkalischen Reaktionsbereich unter sonst gleichen Bedingungen zu untersuchen, wurden in der Regel in der schon beschriebenen Weise<sup>2)</sup> hergestellte Phosphatgemische verwendet. Ein Beispiel ist in Tab. 8 wiedergegeben, s. außerdem den Acetatversuch Tab. 12.

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **63**, 221. 1914.

<sup>2)</sup> *Jodlbauer* und *Haffner* loc. cit.

*Es besteht also beiderseits des Neutralpunktes ein relativ breiter, zusammenhängend von 5,0  $p_H$  bis 8,5  $p_H$  reichender Reaktionsbereich, in welchem die Körperchen auch bei längerem Aufenthalt erhalten bleiben; ist die Reaktion saurer wie rund 4,5  $p_H$  oder alkalischer wie 9,0—9,5  $p_H$ , so tritt vollständige Auflösung der Blutkörperchen ein.*

c) *Einfluß der Reaktion auf die Wirkung von Anionen und Kationen.*

Variation der  $H^+$ -Konzentration innerhalb dieses an sich nicht lytischen Reaktionsbereiches hat nun bereits sehr erheblichen Einfluß auf die Zellwirkung von Anionen und Kationen. Werden auf Blutkörperchen, die in Puffergemischen verschiedener  $H^+$ -Konzentrationen suspendiert sind, die verschiedenen untersuchten Anionen und Kationen in abgestuften Konzentrationen zur Einwirkung gebracht, so zeigt sich folgendes (vgl. die Versuche mit Rose bengale Tab. 9 und mit  $HgCl_2$  Tab. 10): Die erste lytische Wirkung zeigt sich bei *Anionen* auf der sauren Seite und schreitet von hier aus nach dem Neutralpunkt und der alkalischen Seite zu fort. Bei wenig höherer Substanzkonzentration, als zur Lyse notwendig, tritt jedoch auf der sauren Seite Hemmung der Lyse und schließlich unter ausgesprochenen Agglutinationserscheinung Fixierung der Körperchen ein. Mit weiterer Zunahme der Anionenkonzentration wird der Fixierungsbereich nach beiden Seiten breiter, wird aber gleichzeitig in seiner Gesamtheit allmählich weiter nach der sauren Seite verschoben, so daß bei Anionen im allgemeinen Fixierungswirkung nur innerhalb enger Konzentrationsgrenzen bis an den Neutralpunkt heranreicht. Alle übrigen Mischungen zeigen nach wie vor Hämolyse.

Die *Kationenwirkung* bildet das Spiegelbild zu der Anionenwirkung: Bei den allerniedersten Ionenkonzentrationen erster Eintritt der Lyse, bei Konzentrationssteigerung Hemmung der Lyse und schließlich Fixierung der Körperchen, unter ebenfalls stärksten Agglutinationserscheinungen treten hier auf der alkalischen Seite auf; der Fixierungsbereich breitet sich mit Konzentrationssteigerung ebenfalls nach beiden Seiten aus, eine entsprechend starke Verschiebung des ganzen Bereichs nach der alkalischen Seite fehlt hier, so daß die Kationen schließlich nicht nur im Neutralpunkt, sondern auch bei deutlich saurer Reaktion fixieren. — Anders verhält sich die ohne Fixierung einhergehende Agglutination durch unterlytische Konzentrationen der dreiwertigen Kationen, sie wird durch alkalische Reaktion aufgehoben. —

Das Hervortreten der fixierenden Wirkung bei Anionen durch saure, ihre Verstärkung bei Kationen durch alkalische Reaktion findet sich nicht nur ganz gleichartig bei allen hier untersuchten stark wirkenden Elektrolyten, sondern auch bei solchen, die für sich allein selbst in isotonischer Konzentration keine auffallende Wirkung auf Blutkörperchen

zeigen, wie bei vielen Salzen organischer Säuren, andererseits bei vielen basischen Farbstoffen und anderen organischen Basen. Sie macht sich hier ebenfalls in Fixierung, bzw. Resistenzerhöhung oder in Agglutination geltend; so tritt z. B. durch isotonische Konzentration von salicylsaurem Natrium bei einer 4—5 pH. entsprechenden sauren Reaktion vollkommene Fixierung der Körperchen, bei weniger saurer Reaktion dagegen Lyse ein. Es sei hier auch auf die Ergebnisse *Sollmanns*<sup>1)</sup> über die fällende Wirkung des Tannins hingewiesen, das sich ebenfalls als anionisches Agens verhält und vom Neutralpunkt nach der sauren Seite zu eiweißfällend und damit adstringierend wirkt. Ferner sei hier noch an den ganz analogen gegensätzlichen Einfluß der Reaktion auf die histologische Färbung durch anionische bzw. kationische Farbstoffe erinnert<sup>2)</sup>. Bei der antagonistischen Bedeutung der H<sup>+</sup>-Konzentration für die Wirkung von Anionen und Kationen handelt es sich scheinbar um eine allgemein gültige Regel.

Diese für das gesamte Wirkungsbild so charakteristische Gegensatzlichkeit von Anionen und Kationen beruht offensichtlich auf der gegensätzlichen elektrischen Ladung der beiden Ionenarten, und weist somit auf die große Bedeutung elektrochemischer Reaktionen für die Ionenwirkung auf die Zelle hin.

Die folgenden Versuche über den Mechanismus dieser verschiedenen Wirkungserscheinungen gingen von dem Gedanken aus, an den *Blutkörperchenbestandteilen* Veränderungen aufzufinden, die einerseits in unzweideutigem Zusammenhang mit dem Zellverhalten stehen, andererseits einer physikalisch-chemischen Analyse zugänglich wären.

## II. Mechanismus der Agglutination und Fixierung durch Ionen.

Als Ausgangspunkt dienten Untersuchungen über die Einwirkung der verschiedenen Ionen bei Zimmertemperatur auf durch Wasser lysierte Blutkörperchen. Die Lysate waren durch nachträglichen Zusatz von Kochsalz wieder auf 0,9% Kochsalz gebracht. Die Anionen zeigen hierbei nichts besonderes, abgesehen von der schon besprochenen Hämatinbildung durch hohe OH<sup>-</sup>-Konzentrationen; die Lysate bleiben dauernd klar. Anders bei den Kationen; hier treten in all den Konzentrationen, in denen bei den Körperchen Agglutinationserscheinungen oder Fixierung eingetreten waren, in den Lysaten Fällungserscheinungen auf, wie dies schon Svante *Arrhenius* (loc. cit.) für Metallsalze gezeigt hatte. Kationen wie Hg<sup>++</sup> (Tab. 5), die erst in hoher Konzentration fixierend wirken, bewirken in denselben Konzentrationen Fällung im Lysat,

<sup>1)</sup> Journ. of pharm. a. exp. therap. **17**, 63. 1921.

<sup>2)</sup> Vgl. *Jodlbauer* und *Haffner*, Arch. f. d. ges. Physiol. **189**, 249. 1921.

in niedrigeren Konzentrationen bleiben die Lysate dauernd klar. Andere wie  $\text{Fe}^{+++}$  (Tab. 7) zeigen zwei mehr oder weniger von einander getrennte Fällungszonen, eine bei niedriger Konzentration, der Agglutination ohne Fixierung entsprechend, die andere bei hohen fixierenden Konzentrationen. Außerdem zeigt sich in den Lysaten bei denselben Konzentrationen wie bei den Blutkörperchen Hämatinbildung mit nachfolgendem Ausfall brauner Flocken. Die Parallelität von Fixierung bzw. Agglutination der Körperchen und Fällungserscheinungen im Lysat ist besonders deutlich bei Variation der  $\text{H}^+$ -Konzentration: Die Kationen zeigen ihr stärkstes Fällungsvermögen bei alkalischer Reaktion (Hg-Versuch, Tab. 10), die Anionen wirken nur auf der sauren Seite fällend (Rose bengale-Versuch, Tab. 9).

Weitere Aufklärung brachte die Differenzierung dieser verschiedenen Fällungserscheinungen. Um zu entscheiden, ob die Erscheinungen von den *Stromata* der Körperchen oder von der bei der Wasserlyse austretenden *Hämoglobinfraktion* abhängen, wurden, neben der mikroskopischen Untersuchung der Coagula, Parallelversuche mit Lysaten angestellt, die von den Stromata befreit waren. Nach verschiedenen Versuchen mit den zur Stromata-Darstellung empfohlenen Methoden erwies sich hierzu am geeignetsten die Filtration durch eine nicht zu dichte Berkefeldkerze.

### 1. Mechanismus der Agglutination ohne Fixierung.

Was zunächst die Fällungserscheinungen betrifft, die der Agglutination durch niedere, nicht fixierende Konzentrationen von Eisen- und Aluminiumsalzen parallelgehen, so handelt es sich hierbei um eine sehr zarte Flockenbildung, die sich nach kurzer Zeit zu einem lockeren weißlichen Bodensatz absetzt; die darüberstehende Lösung bleibt weiterhin vollständig klar und zeigt die unveränderte Farbe des Oxyhämoglobins. Mikroskopisch erweisen sich diese Flocken als Aggregate von Blutkörperchenschatten. Dementsprechend bleibt auch unter sonst gleichen Bedingungen jede Flockung aus, wenn die Lysate vorher von den Stromata befreit worden waren. Die *Agglutination durch diese Salze beruht also auf einer Fällung der Blutkörperchenstromata*, wie dies auch schon für die Agglutination durch Ricin, Crotin usw. vor längerer Zeit von Kobert<sup>1)</sup> gezeigt worden ist.

Weitere Versuche betrafen die Frage, ob hierbei Entladungsvorgänge eine Rolle spielen, die schon so vielfach für Agglutinationserscheinungen verantwortlich gemacht worden sind, ohne daß jedoch immer ein solcher Zusammenhang im Experiment bestätigt werden konnte. Es wurde hierzu die Wanderungsrichtung der Körperchen im elektrischen Stromgefälle

<sup>1)</sup> Arb. aus dem Pharmakol. Inst. Dorpat I, S. 92, III, S. 59. 1889, Görbersdorfer Veröffentl. I, S. 48. 1898.



(110 Volt Elektrodenspannung) bestimmt. Die Beobachtung der wandernden Körperchen geschah mikroskopisch in einer der *Höberschen* Anordnung<sup>1)</sup> entsprechenden Weise. Außerdem wurden auch makroskopische Überführungsversuche vorgenommen. Ein geeignet abgemessenes U-Röhrchen wurde hierzu mit der Blutkörperchensuspension gefüllt und senkrecht in zwei offene Schälchen getaucht, die mit derselben Suspension beschickt waren. In diese Schälchen wurde der Strom mittels unpolarisierbarer Elektroden eingeleitet. Vor Stromschluß wurde kurze Zeit gewartet, bis die Körperchen durch Senkung in jedem der beiden Schenkel der U-Röhre einen scharf abgegrenzten Meniscus gebildet hatten, was etwa  $\frac{1}{4}$  Stunde beanspruchte. Die nun bei Stromschluß eintretende Verschiebung der beiden Menisci gegeneinander betrug bei Blutkörperchen in gewöhnlicher 0,9 proz. NaCl-Lösung nach  $\frac{1}{4}$  Stunde Stromdurchgang etwa 1 cm.

Schon gelegentlich der ersten Bestimmung der Blutkörperchenladung hat *Höber* (loc. cit.) gefunden, daß eine Umladung der normalerweise negativ geladenen Körperchen in positiv geladene besonders leicht durch die Salze der dreiwertigen Metalle zu bewerkstelligen ist. Es ließ sich nun in wiederholten Versuchen mit  $\text{FeCl}_3$  (Tab. 7) feststellen, daß im Wendepunkt der Ladung d. h. in derjenigen  $\text{FeCl}_3$ -Konzentration, in welcher die Körperchen keine Wanderung nach einem Pol oder nur eine sehr stark herabgesetzte Wanderung zeigten, in der also die Körperchen am stärksten entladen waren, auch die Agglutination am stärksten erfolgt. *Die Stromatafällungsversuche und die Überführungsversuche zusammengenommen ergeben somit, daß die Agglutination der Körperchen durch die Salze der dreiwertigen Metalle auf der Ausfällung der Stromata in ihrem isoelektrischen Punkte beruht.*

Es mußte sich nun die Frage erheben, warum andere positive Ionen wie  $\text{H}^+$ ,  $\text{Hg}^{++}$ , durch welche doch auch eine Entladung der normalerweise negativ geladenen Stromata möglich sein sollte, keine deutliche Agglutination der Körperchen und auch im Lysat keine Stromatafällung gemacht haben, zumal auch *Michaelis* und *Takahashi*<sup>2)</sup> gefunden hatten, daß aus Blutkörperchenlösungen bei Erteilung einer bestimmten sauren Reaktion mittels Acetatpuffer eine Ausfällung der Stromata erfolgt. Das Optimum der Flockung wurde von ihnen entsprechend 5,0 pH angegeben. Nach *Landsteiner*<sup>3)</sup> und *Kozawa*<sup>4)</sup> bestehen hierbei spezifische Unterschiede der verschiedenen Tierarten. Durch Variation der verschiedenen Versuchsbedingungen ließ sich nun feststellen, daß

<sup>1)</sup> Arch. f. d. ges. Physiol. **101**, 607 und **102**, 196. 1904.

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. **29**, 439. 1910.

<sup>3)</sup> Biochem. Zeitschr. **50**, 176. 1913 und Zeitschr. f. Immunitätsforsch. und exp. Therap. **20**, 137. 1913.

<sup>4)</sup> Biochem. Zeitschr. **60**, 146. 1914.

der *Salzgehalt* des Mediums für diese Verhältnisse von entscheidender Bedeutung ist. *Michaelis* und *Takahashi* haben in kochsalzarmen Medien gearbeitet. Wiederholt man ihre Versuch in 0,9 proz. NaCl-Lösung, so bleibt die Stromataflockung auch nach Tagen aus. Sie tritt sofort ein, wenn der Kochsalzgehalt auf 0,1—0,2% herabgesetzt wird. Umgekehrt können die in salzarmen Lösungen entstandenen Flocken durch Kochsalzzusatz wieder zum vollständigen Verschwinden gebracht werden. In solchen kochsalzarmen Blutlösungen tritt auch bei den im Kochsalzmedium nicht fällenden Metalljonen wie  $Hg^{++}$  Flockung ein (Tab. 11). Es handelt sich in allen diesen Fällen, wie noch besonders betont werden soll, immer nur um eine Fällung der Stromata; stromatafreie Lysate bleiben unter denselben Bedingungen dauernd klar (s. z. B. Tab. 14). Für den prompten Eintritt der Stromataflockung ist außerdem eine nicht zu niedrige Konzentration der gelösten Körperchen notwendig; gewöhnlich wurde mit 5—10% Lysaten gearbeitet. Wurden diese Erfahrungen auf die ganzen Körperchen übertragen, indem diese statt in Kochsalz in isotonischer Rohrzuckerlösung aufgeschwemmt wurden, so konnte nunmehr auch durch die bisher nicht agglutinierenden Kationen weit unter den fixierenden Mengenverhältnissen ausgesprochene Agglutination hervorgerufen werden. Stromatafällung und Agglutination gehen einander vollkommen parallel (Tab. 11 und 12). Auch die agglutinierende und stromataflockende Wirkung der dreiwertigen Ionen ist in salzarmem Medium erheblich verstärkt. Die hemmende Wirkung des Kochsalzes auf beide Erscheinungen ist nicht auf dieses Salz beschränkt; eine Reihe anderer Elektrolyte wirken ebenso, z. B. auch die Puffersalze. Die Flockungen durch  $H^+$  treten daher noch prompter ein, wenn die notwendige Acidität nicht durch die in relativ hohen Konzentrationen notwendigen Puffermischungen, sondern durch Spuren Säure z. B. HCl hergestellt wird. Eine dem physiologischen Ionenantagonismus von Alkali- und Erdkalisalzen entsprechende gegensätzliche Wirkung, etwa in dem Sinne, daß die Flockungslösung des Na durch Ca antagonisiert werde, konnte nicht nachgewiesen werden;  $CaCl_2$  zeigt von den niedersten Konzentrationen an ebenfalls Fällungshemmung.

#### *Mechanismus des Kochsalzeinflusses.*

Über den Mechanismus dieser Neutralsalzwirkung ergaben Reihenversuche (Tab. 12), in denen die Flockung der Stromata und die Agglutination der Körperchen bei verschiedener  $H^+$ -Konzentration (Acetatpuffer) unter gleichzeitiger Variation des Kochsalzgehaltes verglichen wurden, folgendes.

Im *Lysat* zeigt sich bei NaCl-Konzentrationen zwischen 0,025 und 0,075% sofort nach Mischung regelmäßig eine feine Trübung im Röhr-

chen mit  $5,0 p_H$ , also entsprechend dem von *Michaelis* und *Takahashi* angegebenen Flockungsoptimum. Die saureren Mischungen erscheinen zunächst noch vollkommen klar. Aber höchstens 1 Minute später beginnt in der sauersten Mischung, die zu dieser Zeit gerade noch keine Hämatinbildung zeigt ( $3,5 p_H$ ), Flöckchenbildung einzusetzen, die dann auch sehr rasch nach einander in immer weniger sauren Mischungen sichtbar wird bis herab zu dem bereits getrübten Röhrchen. Nach wenigen Minuten sind diese Mischungen von einem feinen, zusammenhängenden Flockenschleier durchsetzt, der sich im Laufe der nächsten Stunden zu einem kompakteren Bodensatz zusammenzieht. Am raschesten und stärksten geschieht dies wieder im Röhrchen, mit  $5,0 p_H$ , mit steigender Acidität bleibt das Konglomerat immer lockerer und gallertartiger und sammelt sich von etwa  $3,8 p_H$  an, statt sich abzusetzen an der Oberfläche der Mischungen an. Das Flockungsbild, das sich nach etwa 4 Stunden bietet, ändert sich auch im Laufe mehrerer Tage nicht mehr wesentlich. Bei  $0,025\%$  NaCl reicht deutliche Flockung nach dem Neutralpunkt zu bis etwa  $6,0 p_H$ . Die Stromata flocken in ganz gleicher Weise, wenn die Lyse der Körperchen statt mit Wasser mit Alkohol oder mit Saponin bewirkt wird; die Flockung wird auch durch 20proz. Alkohol nicht wesentlich gehemmt, ebenso nicht durch Saponin selbst in hoher Konzentration.

*Je mehr nun der Kochsalzgehalt erhöht wird, um so langsamer treten im ganzen Flockungsbereich die Flockungserscheinungen ein und um so geringer ist der schließlich vorhandene Ausfall.* Gleichzeitig wird der Flockungsbereich mehr und mehr eingeschränkt, indem die Flockungsgrenze immer weiter vom Neutralpunkt wegrückt. Bei  $0,25\%$  NaCl z. B. tritt der nur noch aus wenigen Flöckchen bestehende Ausfall erst von etwa  $4,7 p_H$  ein, von  $0,75\%$  NaCl ab fehlt jede Flockung, wenigstens solange der Blutfarbstoff unverändert ist.

In den Mischungen höherer Acidität, in denen Hämatin entsteht, kommt es nämlich zu der schon bei den Hämolyseversuchen erwähnten Bildung brauner Flocken. Auch hier handelt es sich um eine Fällung der Stromata; stromatafreie Lösungen zeigen die Flockung nicht. Doch ist auch das Hämatin wesentlich beteiligt, wie schon die Färbung der Flocken und die gleichzeitige Entfärbung der Lösung zeigt, und verschiedene Momente weisen darauf hin, daß man diese komplizierte Stromata-Hämatingflockung prinzipiell von der reinen Stromataflockung trennen muß. So wirkt vor allem bei der ersteren Kochsalz stark fördernd; dadurch zeigt sie sich bei niederem Kochsalzgehalt wesentlich später wie die reine Stromataflockung, bei mehr Kochsalz dagegen vor dieser. Ferner verhindert  $10-20$  Vol% Alkohol, wodurch die reine Stromataflockung nicht gehemmt wird, die Flockung im Hämatinbereich vollkommen. Es beruht dies wohl auf einer Erhöhung der Löslichkeit des in wässriger, saurer Lösung schwer löslichen Hämamins, so daß man also die Flockung im Hämatinbereich als Beispiel der gegenseitigen Ausflockung zweier für sich noch stabiler Lösungs-Bestandteile ansehen kann. Immerhin wird durch diese Flockung die Feststellung der sauren Grenze der reinen Stromataflockung verhindert.

In den *Parallelversuchen mit Blutkörperchen* in Zuckerlösung tritt die Agglutination immer zuerst und zwar sofort nach Mischung in der sauersten, in dieser kurzen Zeit noch nicht lysierenden und hämatinbildenden Mischung ein und breitet sich von hier aus nach dem Neutralpunkt zu aus. Je rascher die Flockenbildung, um so rascher setzen sich auch die zusammengeklumpten Körperchen zu einem lockeren Niederschlag ab. Mit abnehmender Acidität bleibt allmählich die makroskopische Flockenbildung aus; mikroskopisch lassen sich jedoch noch erheblich weiter trauben- und reihenförmige Körperchen-Aggregate feststellen und auch an der im Abschnitt I erwähnten Modifikation des entstehenden Niederschlags ist diese schwache Agglutinationswirkung noch gut zu erkennen. Wie die Stromataflockung tritt auch die Agglutination der Körperchen um so rascher und um so stärker auf und reicht um so näher an den Neutralpunkt heran, je niedriger der Kochsalzgehalt ist. Die jeweiligen Reaktionsbereiche der Stromata und der Körperchenflockung decken sich vollständig.

Was nun die *elektrische Ladung* der Stromata und der Körperchen betrifft, so fand sich als erstes, daß die Entladung bzw. Umladung durch  $H^+$ , was auch *Kozawa* (loc. cit.) beobachtete, eine gewisse Zeit beansprucht, und daher naturgemäß um so rascher vollendet ist, je höher die  $H^+$ -Konzentration ist; so fand sich z. B. bei 0,025% NaCl der isoelektrische Punkt der Körperchen nach 10 Minuten bei 3,8  $p_H$ , nach 30 Minuten bei 4,1  $p_H$  nach etwa 2 Stunden ist der endgültige Stand bei 4,4  $p_H$  erreicht, der sich auch in mehreren Tagen nicht mehr ändert. Damit erklärt es sich, daß die Flockung der Stromata ebenso wie die der Körperchen nicht zuerst in ihrem schließlichen isoelektrischen Punkt auftritt, sondern von der Seite höherer Acidität her erfolgt. Die endgültigen isoelektrischen Punkte fanden sich

	für die Stromata		für die Körperchen	
in 0,025% NaCl bei	4,7	$p_H$ .	4,4	$p_H$ .
in 0,075% NaCl bei	4,4—4,1	$p_H$ .	4,1	$p_H$ .
in 0,25% NaCl bei	3,8	$p_H$ .	3,8	$p_H$ .
in 0,75% NaCl bei	3,2	$p_H$ .	< 3,5	$p_H$ .

Die weitgehende Übereinstimmung beider Reihen zeigt, daß das elektrische Ladungsverhalten der ganzen Körperchen unter den betrachteten Verhältnissen durch die Stromasubstanz und nicht durch das Hämoglobin, dessen isoelektrischer Punkt bei 6,8  $p_H$  liegt, bestimmt wird, was daran denken ließe, daß die Oberfläche der Körperchen von der Stromasubstanz gebildet wird, wogegen allerdings wieder spätere Versuche sprechen werden (s. Abschnitt 2). Die isoelektrischen Punkte liegen jeweils inmitten des Flockungs- bzw. Agglutinationsbereichs, so daß auch hier die Agglutination als eine Flockung der Stromata in und um ihren isoelektrischen Punkt anzusehen ist.

Ein Zusammenhang der Entladungsvorgänge mit der im Lysat bei 5,0  $p_H$  zuerst auftretenden Trübung und der auch hier am stärksten vorhandenen Senkung der Flocken war nicht zu erkennen. Die Verstärkung der Flockung in diesem Punkt dürfte auf der Mitwirkung von Serumglobulin beruhen, das auch durch vielfaches Waschen aus seiner Adsorption an die Zelloberfläche nicht vollständig gelöst worden ist. Wenigstens zeigt sich bei Flockungsversuchen mit 10 — oder noch mehrfach verdünntem Serum bei sonst analoger Anordnung das Maximum der Globulinflockung ebenfalls genau in demselben Röhrchen mit 5,0  $p_H$ . Im übrigen liegt jedoch bei dieser Anordnung der Flockungsbereich des Globulins in seiner Gesamtheit näher dem Neutralpunkt wie der der Stromata, seine saure Grenze reicht höchstens bis 4,1  $p_H$ .

Schließlich geht aus der Tabelle noch hervor, daß der isoelektrische Punkt von Stromata und Körperchen mit zunehmender Kochsalzkonzentration etwas nach der sauren Seite verschoben wird. Höber hat seinerzeit beobachtet, daß Blutkörperchen in Rohrzuckerlösung mit höchstens 0,02% NaCl durch Kohlensäure und andere schwache Säuren z. B. Essigsäure leicht umgeladen werden können, nicht aber in isotonischer Kochsalzlösung und hat dies als Folge einer durch die Säure eintretenden Permeabilitätsänderung der Körperchenmembran zu erklären versucht<sup>1)</sup>. Die durch Kochsalz eintretende Verschiebung des isoelektrischen Punktes der Körperchen nach höherer Acidität dürfte die Beobachtung Höbers in einfacher Weise erklären; da die durch Hämolyse erhaltenen Stromata dasselbe Verhalten zeigten, dürfte eine Permeabilitätsänderung der intakten Zellen als Ursache hierfür wohl kaum in Betracht kommen.

Bei der Flockung der Stromata in salzarmen Lysaten handelt es sich nun nicht etwa nur darum, daß die einzelnen Stromata sich einfach so, wie sie in ihrem natürlichen elektrolytreichem Medium vorgebildet sind, aneinander lagern und ausfallen. Parallel mit der Flockung geht, nämlich, wie sich unter dem Mikroskop bei jedem einzelnen Blutkörperchenschatten sehen läßt, auch noch eine Verdichtung der Stromasubstanz jeder einzelnen Zelle. Die einzelnen Zellschatten sind im Mikroskop erst eigentlich unter Flockungsbedingungen deutlich sichtbar. Umgekehrt können die deutlich sichtbaren Stromata einer geflockten Mischung unter dem Mikroskop durch Zusatz von Kochsalz oder Spuren Lauge sofort wieder zum vollständigen Verschwinden gebracht werden. In gleicher Weise lassen sich die Stromata auch durch Anwendung der üblichen Eiweißfällungsmittel sichtbar machen<sup>2)</sup>. Mit einer — hier rein osmotisch bedingten — Verdichtung der Stromasubstanz hängt wohl auch die Erscheinung der sog. „Reversibilität“<sup>3)</sup> der Hämolyse zusammen: Durch Wasser klar durchsichtig gewordene Blutkörperchensuspensionen (deutlich von etwa 20% an zu beobachten) werden durch Zusatz von Salzen (vorübergehend) wieder ganz plötzlich undurchsichtig und lassen mikroskopisch die vorher nicht mehr sichtbare Zellform wieder deutlich erkennen; dabei ergibt Zentrifugieren, daß das Hämoglobin bereits so gut wie vollständig ausgetreten ist.

<sup>1)</sup> Phys. Chemie der Zellen und der Gewebe. 4. A., S. 599—603. 1914.

<sup>2)</sup> *Ronhonyi*, Kolloidchem. Beih. 8, 391. 1916.

<sup>3)</sup> *Rusznyak*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. und exp. Therapie 8, 421. 1911; dort weitere Literatur.

Mit dem eigentlichen Agglutinationsvorgang, d. h. der Ausflockung der Stromata, ist also eine Fällung der Stromasubstanz in jeder einzelnen Zelle verbunden bzw. muß ihr vorausgehen. Auf eine solche Veränderung der Stromasubstanz in jeder einzelnen Zelle weist auch die sofort zu besprechende Resistenzerhöhung der Blutkörperchen gegen lytische Agentien hin.

Hand in Hand mit der Agglutination im salzarmen Medium, geht nämlich eine *Hemmung der Hämolyse*. Bei 0,75% NaCl ist im Puffergemisch mit 4,1  $p_H$  die Hämolyse bereits nach  $\frac{1}{2}$  Stunde vollständig, im Röhrchen mit 4,4  $p_H$  nach 6 Stunden fast vollkommen. Bei 0,025% NaCl dagegen ist bei 3,5  $p_H$  selbst nach 24 Stunden noch keine oder jedenfalls nur eine sehr geringfügige Lyse vorhanden. Diese starke Hemmung beruht nicht etwa auf einer Verschiebung der  $H^+$ -Konzentration im Rohrzuckermedium — die  $p_H$ -Werte der Kochsalz- und der Zuckerpuffermischungen variieren höchstens um 0,1 — sondern offenbar auf der Fällung der Stromasubstanz. Die Lyse ist übrigens nur zeitlich verzögert; bei öfterem Umschütteln wird sie nach mehreren Tagen genau wie im Kochsalzversuch bis einschließlich 4,4  $p_H$  vollständig. Diese bedeutende Resistenzerhöhung durch salzarmes Medium findet sich auch gegenüber anderen Kationen wie  $H^+$ ,  $Ag^+$  (Tab. 11) und ist auch gegenüber anderen lytischen Agentien bereits bekannt<sup>1)</sup>. Auch bei der von *Bang*<sup>2)</sup> gefundenen Resistenzerhöhung von Zuckerblutkörperchen gegen Hypotonie kann es sich nicht allein darum handeln, daß infolge der von *Gürber* nachgewiesenen Salzauswanderung aus den Zellen der osmotische Druck des Zellinnern herabgesetzt ist; sondern es muß an dem Effekt, wie der folgende Versuch zeigt (Tab. 13) eine andere nicht osmotische Salzwirkung zum mindesten beteiligt sein. Zwei Proben derselben Blutkörperchen, die eine 3 Tage in isotonischer Rohrzuckerlösung gehalten, die andere in 0,9proz. Kochsalzlösung belassen, wurden bezüglich ihrer hypotonischen Resistenz mit einander verglichen und zwar sowohl in Rohrzuckerlösung verschiedenen Hypotoniegrades wie in Kochsalzlösung. Die Grenzen für vollkommene Hämolyse fanden sich:

für Rohrzuckerblutkörperchen

- |   |  |
|---|--|
| a) bei 0,5 ccm isot. Zuckerlösung<br>+ 9,5 ccm Wasser | b) bei 2 ccm 0,9% NaCl<br>+ 8 ccm Wasser |
|---|--|

für Kochsalzblutkörperchen

- |   |  |
|---|--|
| a) bei 5 ccm isot. Zuckerlsg.<br>+ 5 ccm Wasser | b) bei 5 ccm isot. NaCl<br>+ 5 ccm Wasser. |
|---|--|

Während also Kochsalzblutkörperchen sowohl in Rohrzuckerlösung wie in Kochsalzlösung bei demselben Hypotoniegrad gelöst werden

<sup>1)</sup> *Miculicich*, Zentralbl. f. Physiol. **24**, 12. — *Handovsky*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **69**, 412. 1912.

<sup>2)</sup> *S. Höber*, Physik. Chem. d. Zellen u. d. Gew. **3**. A., S. 241. 1911.

ist die Resistenz der Rohrzuckerblutkörperchen im Kochsalzmedium erheblich niedriger wie ohne Elektrolyten, was auf Grund osmotischer Vorgänge nicht erklärt werden kann. Auch hier wird also wahrscheinlich der Hydratationszustand der Stromasubstanz von Bedeutung sein. Daß die Resistenzzunahme der Rohrzuckerbehandelten Körperchen in NaCl nicht vollkommen zurückgeht, kann u. a. auch mit einer auch sonst festzustellenden, mit der Zeit eintretenden Irreversibilität der Stromasubstanzfällung zusammenhängen. Auch bei vielen sonst noch bekannten Wirkungen von elektrolytfreiem Medium auf Zellen bzw. Zellfunktionen z. B. auf die Muskeleirregbarkeit, spielen vielleicht analoge reversible Dehydratationsvorgänge eine Rolle; (siehe auch die Wirkung auf Pflanzenzellen<sup>1</sup>).

*Die Hauptergebnisse dieser Versuche können also dahin zusammengefaßt werden, daß auch die Agglutination durch H<sup>+</sup> auf der Fällung der Stromata in und um ihren isoelektrischen Punkt beruht und daß die Hemmung und schließliche vollständige Aufhebung der Zellagglutination durch Neutralsalz auf eine Hemmung bzw. Aufhebung der Stromasubstanzfällung in ihrem ganzen Flockungsbereich (auch im isoelektrischen Punkt) zurückzuführen ist. Daneben macht sich unter Kochsalzeinfluß noch eine geringe Verschiebung des isoelektrischen Punktes der Stromata wie der Zellen nach der sauren Seite geltend.*

Bei Durchsicht der *Literatur* ergab sich, daß der hemmende Einfluß von Neutralsalz schon bei verschiedenen Agglutinationsvorgängen beobachtet ist. *Radsma*<sup>2</sup>) hat den hemmenden Einfluß von Neutralsalzen auf die ja schon häufig beobachtete „spontane“ Agglutination von Zuckerblutkörperchen untersucht und dabei die bekannten lyotropen Reihen wiedergefunden, woraus er schloß, daß die Salzwirkung durch Einwirkung auf ein hydrophiles Kolloid zustande komme. Später erkannte er in der Kohlensäure bzw. ihren H<sup>+</sup>-Ionen die Ursache der Agglutination im Anelektrolytmedium und fand, daß die Blutkörperchen verschiedener Tierarten bezüglich ihrer Agglutinabilität durch H<sup>+</sup> im Zuckermedium sich deutlich unterscheiden. Das verschiedene Verhalten von Zucker- und Kochsalzblutkörperchen führen *Brinkmann* und Mitarbeiter<sup>3</sup>) auf eine unter Kochsalz eintretende, unter Zucker jedoch ausbleibende Auswaschung gewisser Substanzen aus den Zellen zurück. Diese Anschauung kann nicht zutreffen, da Agglutinationsförderung und Lysehemmung in Zuckerlösung genau so eintritt, wenn die Körperchen vielfach in Kochsalzlösung gewaschen und außerdem erst nach tagelangem Aufenthalt in Kochsalzlösung in die Zuckerlösung übertragen werden. Bei den neueren Untersuchungen über senkungsbeschleunigende Plasmastoffe wurde bisher in der Hauptsache als Ursache der Senkungsbeschleunigung eine Verringerung der Körperchenladung in Betracht gezogen, wobei auch Beobachtungen über eine senkungshemmende Wirkung und eine die normale negative Ladung der Körperchen verstärkende Wirkung des Kochsalzes gemacht wurden. So wurde u. a. von *Runnström*<sup>4</sup>) in einer erst nach Abschluß der vorstehenden Versuche erschienenen

<sup>1</sup>) Höber, Physik. Chemie d. Zellen u. d. Gewebe, S. 526f.

<sup>2</sup>) Biochem. Zeitschr. **89**, 211. 1918; Arch. néerland. physiol. **3**, 365. 1919.

<sup>3</sup>) *Brinkmann* und *van Dam*, Biochem. Zeitschr. **108**, 35, 52, 61. 1920 und *Brinkmann* und *Wastl*, Biochem. Zeitschr. **124**, 27. 1921.

<sup>4</sup>) Biochem. Zeitschr. **123**, 1. 25. X. 1921, und dort auch weitere Lit.

Arbeit festgestellt, daß die eben agglutinierende  $H^+$ -Konzentration (im Plasma) durch Kochsalz nach höherer Acidität verschoben wird, und dies ebenfalls zu einer Erklärung der Höberschen Beobachtung herangezogen. *Linzenmeier*<sup>1)</sup> war allerdings in seiner letzten Arbeit zu einer geringeren Bewertung des Ladungseinflusses gekommen.

Die vorstehenden Versuche zeigen nun, daß bei Betrachtung des isoelektrischen Punktes der Körperchen die wirkliche Verschiebung des Entladungspunktes nach der sauren Seite durch Kochsalz sich erheblich geringer herausstellt, als es bei Betrachtung der Agglutinationsgrenze erscheinen könnte, und daß *nicht diese geringe Verschiebung des Entladungspunktes, sondern in erster Linie die im ganzen Flockungsbereich, auch im jeweiligen isoelektrischen Punkt vorhandene Flockungshemmung der Stromasubstanz für die Agglutinationshemmung durch Neutralsalze verantwortlich ist.*

Wie ist nun diese Flockungshemmung der Stromasubstanz durch Neutralsalz zu deuten? Die Flockung im isoelektrischen Bereich bei Zimmertemperatur ist ein charakteristisches Merkmal *hydrophober* Kolloide und kann als Zeichen einer besonders geringen Hydratation ihrer Neutralteile angesehen werden. Wir kennen nun hydrophobe Eiweißkörper wie Serunglobulin<sup>2)</sup>, hitzedenaturiertes Serumalbumin<sup>3)</sup>, deren Flockung im isoelektrischen Bereich durch verschiedene Neutralsalze gehemmt wird. So kommt es, daß z. B. Globulin sich in seinem natürlichen, elektrolytreichen Medium ähnlich den *hydrophilen* Kolloiden verhält, die im isoelektrischen Bereich nicht flocken. Während nun aber die eigentlichen hydrophilen Eiweißkörper wie Hämoglobin, genuines Albumin auch noch in sehr elektrolytarmem Medium stabil sind und erst durch eingreifende Agentien z. B. durch die Hitzedenaturierung in hydrophobe Form überführt werden, tritt beim Globulin schon durch relativ geringe Abnahme des Elektrolytgehalts eine so starke Dehydratation ein, daß um den isoelektrischen Punkt herum Ausfall eintritt und zwar um so stärker und ausgedehnter, je niedriger der Salzgehalt. Über den näheren Mechanismus dieses unterschiedlichen Verhaltens gegenüber Neutralsalz ist ein abschließendes Urteil noch nicht möglich. Doch erscheint es nicht unwahrscheinlich, daß die Hydratationssteigerung hydrophober Eiweißkörper durch Neutralsalz irgendwie mit der Anlagerung der *beiden* Ionen des Neutralsalzes an der Peptidbindung zusammenhängt (vgl. Abschnitt IV); die an sich hydrophilen Eiweißkörper haben möglicherweise an derselben Stelle Wasser direkt angelagert, so daß also hier keine Peptidbindung, sondern eine Bindung analog eines Ammoniumsalzes vorliegen würde.

Ganz analog dem Globulin verhält sich, wie wir gesehen haben, die Stromasubstanz der Körperchen: Unter den natürlichen Bedingungen der Zellen ist ihre Hydratation genügend groß, um ihre Fällung und damit

<sup>1)</sup> Arch. f. d. ges. Physiol. **181**, 169. 1920 und **186**, 272. 1921.

<sup>2)</sup> *Rona* und *Michaelis*, Biochem. Zeitschr. **28**, 194. 1910.

<sup>3)</sup> *Michaelis* und *Rona*, Biochem. Zeitschr. **94**, 225. 1919; *Michaelis*, Biochem. Zeitschr. **103**, 242. 1920; *Labes*, Arch. f. d. ges. Physiol. **186**, 98 u. 112. 1921.



die Flockung der Zellen auch im entladenen Zustand zu verhindern. Dabei bleibe es ganz dahingestellt, in wieweit für diese Eigenschaften der Stromasubstanz ihre eiweißartigen, etwa  $\frac{2}{3}$  der Stromasubstanz ausmachenden oder ihre lipoiden Bestandteile bestimmend sind. Auch Untersuchungen über die Elektrolytfällbarkeit von anderen Zellsuspensionen haben schon früher zu dem Ergebnis geführt, daß die Zellen trotz ihrer relativ erheblichen Größe nicht den einfachen Entladungsgesetzen, den die hydrophoben Suspensionen unterliegen, sondern den für die Fällung hydrophiler Kolloide geltenden Gesetzmäßigkeiten folgen<sup>1)</sup>. Die Erhaltung dieser hydrophilen Form der Stromasubstanz der Zellen gehört sicherlich zu den wichtigsten physiologischen Funktionen des Elektrolytgehalts der Organismen. *Um Blutkörperchen und andere entsprechend sich verhaltende Zellen zur Flockung zu bringen, müssen daher ganz allgemein wie zur Fällung hydrophiler Kolloidlösungen, zwei Bedingungen erfüllt sein: 1. Überführung in hydrophobe Form, 2. Herstellung isoelektrischer Reaktion.*

Wenn Gruber<sup>2)</sup> — schon bei der ersten Beschreibung der Zellagglutination — auf Grund verschiedener Beobachtungen eine wirkliche *Verklebung* der agglutinierten Zellen angenommen hat, so ist eine solche Verklebung möglicherweise darauf zurückzuführen, daß durch Ausfall der Stromasubstanz die Zelloberfläche eine klebrige, gelatinöse Beschaffenheit erfährt. Die Entstehung gelatinöser Produkte ist auch bei der Fällung hochkonzentrierter hydrophiler Kolloidlösungen zu beobachten, und zwar ganz besonders dann, wenn die Fällung im Übergangsbereich zwischen dem isoelektrischen und dem geladenen Zustand des Kolloids vorgenommen wird. Bei der Hitzeagglutination von 100% stromatafreiem Lysat z. B. entstehen im isoelektrischen Bereich kompakte Flocken, mit Entfernung von diesem Punkt werden die Flocken immer lockerer und bilden dabei immer größere zäh zusammenhängende Aggregate, bis schließlich die ganze Lösung gelatinös erstarrt, um dann im Bereich des geladenen Zustands vollkommen klar und flüssig zu bleiben.

Je nach dem wirksamen Agglutinationsmittel und den besonderen Bedingungen des einzelnen Falles werden diese einzelnen Faktoren: Dehydratation, Entladung, Verklebung in sehr verschiedenem Grade für die Agglutination maßgebend sein können. Neben Agentien, die, wie die Salze der dreiwertigen Metalle, sowohl dehydratisierend wie entladend wirken, werden andere in der Hauptsache nur entladend oder nur dehydratisierend wirken. Zu den ersteren würden  $H^+$ ,  $Hg^{++}$  — wenigstens in niederen Konzentrationen — gehören. Wirkung durch Dehydratation ist dagegen umso mehr anzunehmen, je weniger die Agglutination mit einer Entladung der Zellen sich verknüpft erweist. Dabei kann eine Annäherung an den isoelektrischen Punkt auch ohne direkte entladende Wirkung des betreffenden Agens dadurch zustande kommen, daß das entstandene hydrophobe Produkt einen näherliegenden isoelektrischen Punkt besitzt wie die native Stromasubstanz. Eine Überführung in hydrophobe Form kann naturgemäß auch dadurch eintreten, daß sich mit den Zellkolloiden andere Kolloide zu einem sich hydrophob verhaltenden Komplex vereinigen. In dieser Richtung scheinen vor allem die biogenen

<sup>1)</sup> S. *Beckhold*, Die Kolloide in Biologie und Medizin, 2. A. 1919, S. 218. und *Höber*, Phys. Chem. d. Z. u. d. G. 4. A., S. 298 u. 327.

<sup>2)</sup> Vgl. Münch. med. Wochenschr. 1896, S. 285 und 1899, S. 1329.

Agglutinine zu wirken; wenigstens sprechen dafür u. a. die von *Rona* und *Györgyi*<sup>1)</sup> beobachtete Nichtbeeinflussung der elektrischen Ladung von Blutkörperchen durch Rizin, und die von *Linzenmeier* (loc. cit.) für die senkungsbeschleunigenden Stoffe des Plasmas festgestellte Diskrepanz zwischen der Wirkung auf Ladung und Senkung; für die spezifischen Agglutinine wird diese Anschauung ja schon seit den Untersuchungen *Bordets*, *Bechholds* (loc. cit.), *Neissers* und *Friedemanns* vielfach vertreten.

## 2. Mechanismus der Fixierung und der mit Fixierung einhergehenden Agglutination.

Ganz im Gegensatz zu den soeben besprochenen Fällungserscheinungen treten die Fällungen im Lysat, die der *Fixierung* der Körperchen entsprechen, noch gerade so ein, wenn das Lysat von den Stromata befreit worden war. Sie unterscheiden sich von der Stromataflockung im allgemeinen auch durch ihre große Massigkeit; die Fällung führt ferner zu einer mehr oder weniger vollkommenen Entfärbung des Lysats. Auch in Lösungen von kristallisiertem Oxyhämoglobin (vom Pferd) treten unter analogen Bedingungen Fällungen ein. *Die Fixierung der Blutkörperchen* hängt also von der Fällung des Blutfarbstoffs ab. Daß demgegenüber die Fällung der Stromakolloide keine vollständige Fixierung, sondern, wie besprochen, nur eine Resistenzerhöhung mit sich bringt, liegt vielleicht nur daran, daß die Stromasubstanzen nur einen relativ kleinen Bruchteil der Gesamtkolloide der Blutkörperchen ausmachen.

Auch für die Hämoglobinfällung ist der übrige *Salzgehalt* von wesentlicher Bedeutung. Im stromatafreien Lysat (1%) tritt bei 0,9% NaCl Fällung von etwa  $\frac{1}{400}$  mol. Hg<sup>++</sup> aufwärts ein, bei 0,02% NaCl erst bei  $\frac{1}{60}$  mol., bei 0,009% NaCl noch nicht einmal bei  $\frac{1}{30}$  mol. NaCl fördert also in diesem Konzentrationsbereich die Flockung. Da andererseits die Stromataflockung durch NaCl gehemmt wird, so kommt es in stromatahaltigen Lysaten zu einem etwas verwickelteren Flockungsbild (s. Tab. XIV). Im 10 proz. stromatahaltigen Lysat ist bei 0,05 % NaCl Flockung schon bei  $\frac{1}{7290}$  Mol. zu beobachten. Im stromatafreien Lysat beginnt sie erst zwischen  $\frac{1}{90}$  und  $\frac{1}{30}$  mol. Bei stufenweiser Erhöhung des Kochsalzgehaltes verschwindet im stromatahaltigen Lysat die Flockung in den Hg-Konzentrationen von  $\frac{1}{810}$  an abwärts (Stromataflockung!), die Flockung in den höheren Hg-Konzentrationen wird dagegen mit und ohne Stromata verstärkt und wie im stromatafreien Lysat zu sehen ist, nach den niederen Hg-Konzentrationen zu verbreitert (Hämoglobinflockung!); bei 0,6—0,9% Kochsalz liegt die Flockungsgrenze zwischen  $\frac{1}{810}$  und  $\frac{1}{270}$  mol. Erst bei hypertotonischer Kochsalzkonzentration (von 1,2% an) macht sich auch auf die Hämoglobinfällung eine entgegengesetzte, flockungshemmende Wirkung geltend, bezw. werden bei schon eingetretener Flockung die Coagula wieder gelöst und zwar zuerst in den Mischungen mit den niedersten Hg-Konzentrationen. Man kann also keineswegs behaupten, daß die Eiweißfällung durch HgCl<sub>2</sub> ganz allgemein durch Kochsalz (z. B. bei der Kombination beider Salze in den Sublimatpastillen) gehemmt werde. Die Wiederauflösung der Coagula durch hypertotonische Kochsalzkonzentrationen ist außerdem keine dauernde,

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **105**, S. 120.

nach einigen Stunden tritt wiederum Fällung ein; ebenso verschwindet die Auflösbarkeit mit dem Alter der Flocken allmählich. Dieselbe flockungshemmende bzw. vorübergehend wieder lösende Wirkung *höherer* Kochsalzkonzentrationen findet sich übrigens auch bei der Eiweißfällung durch andere Metallsalze, wie vor allem *Pauli* und *Flecker*<sup>1)</sup> gezeigt haben; auch bei der Hämoglobinfällung durch Alkohol ist sie nachzuweisen.

Der *Agglutination*, die bei der Fixierung der Körperchen in mehr oder weniger ausgesprochener Weise zu beobachten ist, entspricht bei der Fällung des Lysats eine mehr oder weniger starke Ausflockungstendenz der entstandenen Trübung. Dies wird wieder ganz besonders deutlich bei Variierung der H<sup>+</sup>-Konzentration (Tab. IX und X). Läßt man z. B. auf eine 1proz. Blutkörperchensuspension etwa  $\frac{1}{800}$  mol. HgCl<sub>2</sub> in Phosphat-Puffergemischen verschiedener Reaktion einwirken, so erfolgt Fixierung der Körperchen etwa vom Neutralpunkt nach der alkalischen Seite zu bis etwa 10,0 p<sub>H</sub>. Am alkalischen Ende zeigt sich dabei stärkste Agglutination, die nach dem Neutralpunkt zu abnimmt und in diesem überhaupt nicht mehr nachzuweisen ist. Genau so verhält sich die im entsprechenden Lysat-Puffergemisch entstandene Hämoglobinfällung: Ausflockung am alkalischen Ende innerhalb weniger Minuten, stundenlang stabil bleibende, milchige Trübung im Neutralpunkt; die Lysate zeigen während des Ausflockens fast dasselbe Aussehen wie die entsprechenden Röhrchen mit Blutkörperchen. Diese auffallende Übereinstimmung von Zellagglutination und Fällung des hydrophilen Hämoglobins muß es ebenfalls gerechtfertigt erscheinen lassen, die für die Fällung hydrophiler Kolloide geltenden Gesetzmäßigkeiten, wie es im vorausgehenden Abschnitt geschehen ist, allgemein auf die Zellagglutination zu übertragen. *Die mit Fixierung einhergehende Agglutination der Körperchen*, die im übrigen in ihrer äußeren Erscheinung von der Agglutination durch Stromatafällung oft nicht zu unterscheiden ist, *beruht somit, wie die Fixierung, auf der Fällung des Hämoglobins*. Man muß daraus wohl schließen, daß nicht nur die Stromasubstanz, sondern auch das Hämoglobin an der Bildung der Körperchenoberfläche beteiligt ist.

Die *elektrophoretische Untersuchung* der fixierten Körperchen des eben besprochenen Versuchs ergab, daß die stark agglutinierten Körperchen der alkalischen Mischungen viel stärkere anodische Wanderung zeigen wie die nicht agglutinierten Körperchen im Neutralpunkt. Der Agglutination geht also hier keine Entladung parallel. Die Agglutination ist eben auch in diesem Fall nicht *nur* von der Entladung abhängig. — Auf den näheren Mechanismus dieser Hämoglobinfällung durch hohe Ionenkonzentrationen wird im Abschnitt IV zurückgekommen werden.

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **41**, 461. 1912.

### III. Mechanismus der Hämolyse.

Die hämolytische Wirkung vieler Elektrolyte ist zweifellos osmotischer Natur. So kann die Lyse darauf beruhen, daß die Salze in solchem Umfang in die Zellen eindringen, daß der osmotische Gegendruck der Außenlösung unter den zur Erhaltung der Zelle notwendigen Betrag sinkt. In dieser Weise wirken vor allem Substanzen, die erst in relativ hoher Konzentration, und zwar gerade in der Nähe isotonischer Konzentration hämolysieren, z. B.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ <sup>1)</sup>: Für sich allein wirkt Salmiak bis zu mehrfach isotonischer Konzentration rasch lysierend; die Lyse wird durch Kochsalzzusatz gehemmt; zur vollständigen Aufhebung ist gerade so viel Kochsalz nötig, wie zur Aufhebung der Wasserhämolyse. Die Lyse durch derartig wirkende Salze ist also eine Lyse durch *Hypotonie*. Demgemäß konnte auch bei Versuchen mit Salmiak keine Veränderung der Blutkörperchenbestandteile gefunden werden, wie sie sich für die im Folgenden untersuchten Ionen als charakteristisch erwiesen hatte. Auch die bekannte Hämolyse durch stark *hypertonische* Lösungen von Neutralsalzen ist, wie neuerdings *Takei*<sup>2)</sup> gezeigt hat, primär osmotisch bedingt: durch die Hypertonie der Außenlösung kommt es zu einer starken Konzentrationserhöhung der Zellelektrolyten, wodurch dann eine Quellungssteigerung der Zellkolloide ausgelöst werde. Die in der vorliegenden Arbeit in erster Linie untersuchten Ionen wirken nun noch in solch niederen Konzentrationen hämolytisch, daß hierfür derartige osmotische Effekte nicht in Betracht kommen können. Seit langem werden als Ursache der Zellwirkung dieser Ionen chemische bezw. Adsorptionsverbindungen mit Zellbestandteilen (z. B. Metall-eiweißverbindungen) angenommen. Bezüglich des weiteren Mechanismus, d. h. inwiefern solche Reaktionen zur Auflösung der Zelle führen, darüber haben erst die neueren, auch die kolloidale Natur des Objekts berücksichtigenden Untersuchungen zu greifbaren Vorstellungen geführt.

Soweit experimentelle Untersuchungen in dieser Richtung vorliegen, wird die Lyse durch diese Agentien mit *Fällungserscheinungen* in Zusammenhang gebracht. So erblicken *Michaelis* und *Takahashi* (loc. cit.) die Ursache der Säurelyse in der Ausfällung der Stromasubstanz durch *H*, mit deren Optimum die lytische Grenzkonzentration der *H*-Ionen ziemlich zusammenfällt. Zu ähnlicher Anschauung (Lyseeintritt bei Entladung der Zelle bezw. der Membrankolloide) kam auch *Kozawa* (loc. cit.) unter *Höber* bezüglich der Lyse durch die dreiwertigen Lanthanionen. (In einer soeben erschienen Arbeit von *Kosaka* und *Seki*<sup>3)</sup> wird dagegen die Lyse durch Metallsalze mit der Umladung der Körperchen — ohne nähere Zergliederung des Vorgangs — in Beziehung gebracht.) Auch in den neuen Untersuchungen *Bechholds*<sup>4)</sup> und seiner Mitarbeiter, speziell über Sublimathämolyse, wird als Lyseursache eine durch Fällung gewisser Körperchenbestandteile bedingte Entmischung des Kolloidkomplexes der Blutzellen angenommen. Die Wirkung der Metallsalze wird ja wohl ziemlich allgemein, auch bezüglich ihrer sonstigen Zellwirkungen, als ein Fällungsvorgang angesehen, hervorgerufen durch die mehr oder weniger große Unlöslichkeit ihrer Verbindungen mit dem Zelleiweiß.

Abweichend von diesen Ansichten hält *M. H. Fischer*<sup>5)</sup> im Zusammenhang mit seinen Vorstellungen über den Entzündungsvorgang die Quellungssteigerung

1) *Gryns*, Arch. f. d. ges. Physiol. **63**, 100; *Köppe*, Arch. f. d. ges. Physiol. **67**, 189.

2) *Biochem. Zeitschr.* **123**, 104. 1921.

3) *Zit. nach Ber. d. ges. Physiol.* **7**, 545. Aug. 1921.

4) *Arb. a. d. Inst. f. exp. Therap. Frankf.* **11**, 25. 1920; *B. und Krauß*, *Biochem. Zeitschr.* **109**, 226. 1920; *Münch. med. Wochenschr.* 1921, Nr. 5; (vgl. hierzu *Dietrich*, ebenda Nr. 15, 1921); *Salen* ebenda 1921, Nr. 28; *Hattori*, *Biochem. Zeitschr.* **119**, 45. 1921.

5) *Das Ödem*, Dresden 1916, S. 170ff.; vgl. hierzu *Bechhold*, loc. cit. S. 332.

des Zelleiweißes (jedoch nicht des Hämoglobins, das er — wohl irrtümlicherweise — für ein hydrophobes Kolloid erklärt) durch  $H'$  und  $OH'$  auch für das ursächliche Moment ihrer hämolytischen Wirkung. Eine experimentelle Beweisführung hat er nur durch die bekannten Modellversuche mit karmingefärbtem Fibrin versucht.

### 1. Wirkung der Ionen auf die Wärmeflockung der Lysate.

Versuche über die Hämolyse durch Farbstoffe<sup>1)</sup> hatten auf Beziehungen hingewiesen zwischen der Lyse und der Flockung von Blutkörperchenlösungen in der Wärme. 1—5% Lysate zeigen von etwa 56° nach einiger Zeit deutliche Flockungserscheinungen; bei 60° tritt dichte Trübung schon nach etwa 1/2 Stunde ein. Bei Zusatz der verschiedenen hämolytisch wirkenden Farbstoffsalze wird diese Wärmeflockung des Lysatzs mit zunehmender Farbstoffkonzentration zunächst immer mehr beschleunigt und verstärkt und dies um so mehr, je stärker die hämolytische Wirksamkeit des betreffenden Salzes ist. So schien zunächst auch hier Lyse und Flockung von Zellbestandteilen in unmittelbarem ursächlichem Zusammenhang zu stehen. Die weitere Untersuchung zeigte nun, daß bei allen stark hämolytisch wirkenden Elektrolyten eine solche Flockungsförderung nachzuweisen ist, jedoch immer nur bis zu einer optimalen Konzentration des Hämolyticums; bei höherer Konzentration tritt Hemmung der Flockung ein (vgl. Tab. I—VII). Diese kann so vollständig werden, daß die Lysate auch bei längerem Kochen ganz klar bleiben. Solche Flockungshemmungen, wie sie übrigens schon *Preyer*<sup>2)</sup> bei Einwirkung von  $OH'$  und  $HgCl_2$  auf Hämoglobin beobachtet hat, sind ja wohlbekannte Erscheinungen bei der Wirkung von  $H'$ ,  $OH'$  und Metallionen auf Eiweißkörper und sind, wie wir heute bestimmt wissen, durch *Aufladung des Kolloids* durch diese Ionen bedingt und können als Folge einer mit dem Auftreten elektrischer Ladung untrennbar verknüpften sprunghaften Steigerung der Hydratation des Kolloids angesehen werden. Bei noch höherer Ionenkonzentration schließt sich an diese Hemmungszone der Bereich an, in welchem die bereits bei Zimmertemperatur erfolgende, schon besprochene Hämoglobinflockung eintritt. Bei den Metallsalzen, bei welchen diese Flockung bei Zimmertemperatur innerhalb der hier untersuchten Konzentrationsgrenzen auftritt, sehen wir also bei Erhitzung der Lysate zwei Flockungsbereiche, die voneinander durch eine mehr oder weniger breite Hemmungszone getrennt sind. Bei  $H'$  und den Anionen fehlt in den vorliegend untersuchten Konzentrationen der 2. Flockungsbereich. Stromatafreie und stromatahaltige Lysate verhalten sich in den geschilderten Beziehungen ganz gleich.

Vergleicht man nun die Wirkung der verschiedenen Ionenkonzentrationen auf die Wärmeflockung der Lysate mit ihrer Wirkung auf die

<sup>1)</sup> *Jodlbauer und Haffner*, *Biochem. Zeitschr.* **118**, 150. 1921.

<sup>2)</sup> *Arch. f. d. ges. Physiol.* **1**, 395. 1868.

Körperchen bei Zimmertemperatur, so findet man, daß die Flockungshemmung durchweg in den Bereich der lytisch wirkenden Konzentrationen fällt und daß bei  $H'$ ,  $OH'$ , Metall- und Farbstoffionen Hemmungszone und Lysebereich weitgehend übereinstimmen, bei  $H'$  und  $OH'$  sich sogar vollkommen decken. An dem ursächlichen Zusammenhang beider Erscheinungen ist somit nicht zu zweifeln.

Die der Hitzekoagulation hydrophiler Eiweißkörper zugrunde liegende Denaturierung ist beim Oxyhämoglobin stets mit einer Bildung von Hämatin verbunden<sup>1)</sup>. Innerhalb des Flockungsbereichs ist diese mit der Hitzeeinwirkung fortschreitende, der Flockung vorausgehende Hämatinbildung spektroskopisch gut zu verfolgen. Bei flockungshemmenden Konzentrationen der Ionen wird sie, falls sie nicht schon von vornherein, d. h. bei Zimmertemperatur, vorhanden ist, schon nach ganz kurzer Erwärmung maximal, — zu einer Zeit, da noch nirgends eine Flockung zu sehen ist und auch innerhalb des späteren Flockungsbereichs Hämatin noch nicht nachweisbar ist.

*Die Flockungsverstärkung durch mittlere Ionenkonzentrationen.*

Mit der Erscheinung eines Flockungsmaximums bei mittleren Ionenkonzentrationen sind die beiden Flockungsmaxima identisch, die sich in früheren Versuchen von Jodlbauer und Haffner bei der Wärmeflockung von Blutkörperchenlösungen in Puffermischungen verschiedener Reaktion bei 0,9% NaCl ergeben hatten. Bei Temperaturen über 56° tritt beiderseits des Neutralpunktes in einem zusammenhängend von rund 9,5—4,5  $p_H$  reichenden Reaktionsbereich Fällung ein, die im einzelnen regelmäßig folgenden Verlauf zeigt. Nach wenigen Minuten Wärmeeinwirkung (z. B. bei 58°, spätestens nach 5 Minuten) zeigt sich an der sauren Grenze des späteren Flockungsbereichs eine feinflockige Trübung, deutlich später (bei 58° nach 20—30 Minuten) tritt auch an der alkalischen Grenze des Flockungsbereichs Trübung ein, und erfolgt in der bereits feine Flocken zeigenden Mischung auf der sauren Seite eine neuerliche Trübung. Von beiden Flockungsgrenzen schreitet dann die Trübung nach dem Neutralpunkt zu fort. Bei stromatafreien Lysaten bleibt unter gleichen Bedingungen die erste, rasch auftretende Flockchenbildung an der sauren Grenze aus; es handelt sich also hier wieder um die Stromataflockung. In allen übrigen Beziehungen, auch bezüglich der zweiten Trübung auf der sauren Seite gleichen die Flockungserscheinungen vollkommen denen der stromatahaltigen Lysate, beruhen also auf einer Hämoglobinfällung. Wie noch näher zu besprechen sein wird, wird die Wärmeflockung des Hämoglobins durch Kochsalz gefördert; und zwar die Flockung bei alkalischer und die bei saurer Reaktion in verschiedenem Maße, so daß der Flockungsverlauf innerhalb des Flockungsbereichs je nach Salzgehalt ein sehr verschiedenes Bild bietet. Bei sehr niederem Salzgehalt tritt die Flockung in stromatafreiem Lysat zuerst in der Nähe des Neutralpunktes auf und breitet sich von hier aus nach beiden Seiten aus. Bei Kochsalzzusatz wird die Flockung zuerst an der alkalischen Flockungsgrenze sichtbar und schreitet von hier über den Neutralpunkt nach der sauren Flockungsgrenze fort. Erst von etwa 0,02% NaCl an macht sich auch das Flockungsmaximum an der sauren Grenze geltend. Der Punkt langsamster Flockung rückt damit von der sauren Grenze allmählich nach dem Neutralpunkt mitunter sogar etwas in den alkalischen Bereich.

Um nun zu entscheiden, ob für die Beschleunigung der Flockung durch mittlere  $H'$ - und  $OH'$ -Konzentrationen eine Einwirkung auf die Flockung selbst oder auf

<sup>1)</sup> S. auch Bardackzi, Zeitschr. f. physiol. Chem. 70, 205.

die der Hitzeflockung stets vorausgehende Denaturierung verantwortlich zu machen ist, wurde folgender Versuch angestellt. Stromatafreie Lysate wurden teils mit primärem, teils mit sekundärem, teils mit einer Mischung gleicher Teile primären und sekundären Phosphats versetzt, in ein Wasserbad von 58° gebracht und nach 10 Minuten, ehe noch in einem der Röhrechen eine Trübung sichtbar war, zu den Mischungen mit primärem Phosphat so viel NaOH, zu den mit sekundären so viel HCl zugegeben, als zur Umwandlung in die „Neutralmischung“ (prim. : sek. = 1 : 1) notwendig ist; zu den „neutralen“ Mischungen wurden teils gleiche Mengen HCl, teils NaOH, gegeben. In den neutralisierten Mischungen trat sofort starke Trübung ein, die jetzt erst sauer, bzw. alkalisch gemachten blieben klar. Genau dasselbe trat ein, wenn die Proben vor dem zweiten Zusatz auf 20° abgekühlt worden waren und die Zusätze nun bei Zimmertemperatur erfolgten. *H' und OH' beschleunigen also die in der Wärme eintretende Dehydratation des Hämoglobins stark*; hierauf beruht wohl in erster Linie die Verstärkung der Wärmeflockung durch mittlere Ionenkonzentrationen.

#### *Beeinflussung der Flockung durch Kochsalz.*

Auch der Gesamtsalzgehalt der Lysate erwies sich bei der Wärmeflockung nach verschiedener Richtung hin von Bedeutung. Vergleicht man die Wärmeflockung von Lysaten bei 0,9% und bei 0,02—0,1% Kochsalz, so fällt in erster Linie eine starke Beschleunigung der Flockung bei dem höheren Kochsalzgehalt auf; gleichzeitig ist der Flockungsbereich verbreitert, d. h. die Flockungshemmung macht sich erst bei höheren Konzentrationen von H', OH', Metall- oder Farbstoffionen geltend. Es war nun wiederum die Frage, ob diese Verstärkung der Hitzeflockung bei höherem Salzgehalt auf einer Förderung der Flockung als solcher oder der der Flockung vorausgehenden Dehydratation beruhe. Dies wurde folgendermaßen untersucht. Eine Reihe von je 10 cem 1proz. Lysate mit 0,02proz. NaCl wurden ins Wasserbad von 58° gebracht und die einzelnen Röhrechen nach 0, 1, 2, 3 usw. Minuten je mit 1 cem vorgewärmter 9proz. NaCl-Lösung versetzt. Es dauerte nun, ob das Kochsalz sofort oder erst nach 10 Minuten Hitzeeinwirkung zugegeben wurde, jedesmal vom Kochsalzzusatz ab genau 15 Minuten, bis Trübung eintrat. Erst wenn die dem Kochsalzzusatz vorausgegangene Hitzeeinwirkung länger wie 10 Minuten gedauert hatte, zeigte sie einen merklichen verkürzenden Einfluß auf die Flockungszeit; nach 15 Minuten Hitzeeinwirkung z. B. betrug die Zeit bis zur Trübung unter Kochsalz noch 12 Minuten. Ganz ohne Kochsalz gelassen waren dagegen die Mischungen auch nach 1½ Stunden nur erst opak und zeigten auch keine Spur einer Verstärkung der Trübung, wenn der Kochsalzzusatz erst nach Abkühlung der Mischungen auf 20° gemacht wurde. *Die erhebliche Flockungsverstärkung durch Kochsalz muß also auf einer Förderung des der eigentlichen Flockung vorausgehenden Dehydratationsprozesses beruhen.*

Anders verhielten sich Lysate, die mit mittleren dem Übergangsbereich der Flockungs- zur Hemmungszone entsprechenden Konzentrationen von H', OH', Metall- und Farbstoffionen versetzt waren. Auf diese wirkte Kochsalzzusatz auch nach Abkühlung flockungsfördernd bzw. trat in Mischungen, die ohne Kochsalz auch beim Kochen klar blieben, nach Kochsalzzusatz in der Kälte Flockung ein. Hier haben wir also die *verbreiternde Wirkung des Kochsalzes auf den Flockungsbereich* vor uns. Es handelt sich hierbei wohl um die bekannte entladende Wirkung von Neutralsalzen auf geladenes Kolloid. Wie wir im Abschnitt II 2 gesehen haben, fördert Kochsalz auch die Hämoglobinfällung durch hohe Metallsalzkonzentrationen bei Zimmertemperatur und verschiebt ihre Flockungsgrenze nach niederen Konzentrationen. Die beiden bei der Hitzefällung von Lysaten unter Metallsalzeinwirkung vorhandenen Flockungsbereiche rücken somit mit zunehmendem Kochsalzgehalt einander immer näher, und es kommt schon bei 0,9% NaCl durch

diese beiderseitige Einschränkung der Hemmungszone zu einer fast vollkommenen Verwischung der Flockungshemmung, weshalb es zu ihrer Feststellung bei Metallsalzen notwendig ist, in möglichst elektrolytarmen Medien zu arbeiten, außerdem mit möglichst dünnen Hämoglobinlösungen (vgl. hierzu auch *Pauli* und *Flecker*).<sup>1)</sup>

Setzt man den Salzgehalt der Lysate noch weiter herab, durch mehrfaches Waschen der Körperchen mit Rohrzuckerlösung vor ihrer Lysierung oder durch achttägiges Dialysieren des stromatafreien Lysats, so ist die Hitzeflockung des Hämoglobins noch *weiter abgeschwächt und verzögert*.

## 2. Einfluß der Ionen auf die Alkoholflockung der Lysate.

Da bei den Wärmeflockungsversuchen letzten Endes immer nur das Flockungsverhalten des Denaturierungsproduktes des Hämoglobins festgestellt wird, so wurde versucht, durch Alkoholflockungsversuche über die Wirkung der Ionen auf den genuinen Blutfarbstoff Aufschluß zu erhalten. Übrigens deutet die oben erwähnte Beschleunigung der Hämatinbildung in der Hemmungszone schon auf eine Veränderung des genuinen Blutfarbstoffs hin. Nach *Pauli*<sup>2)</sup> kann die Aufhebung der *Alkoholfällbarkeit* auch bei hydrophilen Kolloiden als Zeichen ihrer Aufladung gelten. Zwar kommt es bei Alkoholeinwirkung schließlich auch zu einer Denaturierung. In diesbezüglichen Versuchen wurden in der Regel die Lysate mit gleichen Mengen 96proz. Alkohols versetzt und bei Zimmertemperatur beobachtet. Auch bei der Alkoholfällung finden sich nun wie die Versuche mit NaOH (Tab. I), HCl (Tab. IV, ferner Tab. VIII) und HgCl<sub>2</sub> (Tab. V) zeigen, dieselben Flockungshemmungszonen wie bei der Hitzefällung. Auch der Umfang des Flockungsbereichs ist in der gleichen Weise vom Kochsalzgehalt abhängig wie bei der Hitzefällung. Die Mischungen des Flockungsbereichs lassen nun selbst einige Zeit nach eingetretener Fällung weder bei Spektroskopie der getrübbten Mischungen, noch nach vollständiger Wiederauflösung durch hochkonzentrierte Kochsalzlösung (s. Abschn. II, 2) Hämatin als Zeichen einer bereits stattgefundenen Denaturierung erkennen, sondern zeigen Farbe und Spektrum des unveränderten Oxyhämoglobins. Die Fällung durch Alkohol vollzieht sich hier also bereits am genuinen Blutfarbstoff, kann somit in der Tat zur Trennung von geladenem und ungeladenem Zustand des unveränderten Kolloids dienen. Wie bei der Wärmeflockung stimmen auch gegenüber Alkohol stromatahaltige und stromatafreie Lysate in den geschilderten Beziehungen vollkommen überein, auch Lösungen kristallisierten Pferdehämoglobins zeigen unter analogen Bedingungen dieselben Flockungshemmungen.

*Die Versuche führen somit zu dem Schluß, daß für die Hämolyse durch H<sup>+</sup>, OH<sup>-</sup>, Metallkationen und Farbstoffanionen ihre Einwirkung auf das Hämoglobin maßgebend ist, und daß diese nicht in einer Fällungswir-*

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **41**, 501.

<sup>2)</sup> Kolloidchemie der Eiweißkörper 1. Hälfte, S. 32. 1920.



*kung besteht, sondern in einer der Fällung vorhergehenden und entgegengesetzten Zustandsänderung des Hämoglobins, die eine unmittelbare Folge seiner Aufladung durch diese Ionen darstellt und als eine Steigerung seiner Hydratation angesehen werden kann.*

Gegenüber der allgemeinen Übereinstimmung von Lysebereich und Hemmungszone dürften kleinere Differenzen in den Grenzen beider Bereiche nicht zu viel zu bedeuten haben, da sich naturgemäß zwischen der Ionenwirkung auf das hochkonzentrierte Hämoglobin innerhalb der Körperchen und der auf die relativ dünnen Hämoglobinlösungen der Lysate Unterschiede ergeben müssen, zumal auch noch Unterschiede des Elektrolytmediums, wie wir gesehen haben, hierbei wesentlich mitwirken können. Bei H<sup>+</sup>- und Metallkationen könnte man allerdings aus dem nahen Beieinanderliegen von Lysegrenze und isoelektrischem Punkt der Stromasubstanz, wodurch *Michaelis* und *Takahashi* auf den Gedanken eines Zusammenhangs von Lyse und Stromataflockung gebracht wurden, zunächst schließen, daß zur Aufladung des Hämoglobins auch noch eine solche der Stromasubstanz hinzukommen müsse. Dem widerspricht aber die Wirkung der OH<sup>-</sup>-Ionen, bei welchen Lyse und Hämoglobinflockungshemmung ebenso zusammenfallen, ohne daß hier ein besonderer Wendepunkt im Verhalten der Stromasubstanz erkennbar ist. Bei anderen Substanzen wie ölsaurem Natrium und besonders Saponin, liegen Lyse und Flockungshemmung so erheblich auseinander<sup>1)</sup>, daß man annehmen muß, daß die Verteilungsverhältnisse dieser Hämolytika einerseits zwischen Lösungsmittel und dem Hämoglobin *innerhalb* der Blutzellen, andererseits zwischen Lösungsmittel und *gelöstem* Hämoglobin erheblich auseinanderliegen. Vielleicht dürfte hier aber auch die Wirkung auf das Hämoglobin in ihrer Bedeutung für die Lyse mehr oder weniger gegenüber anderen Angriffspunkten zurücktreten. So ist wohl auch sicher die spezifische Hämolyse ausschließlich auf eine Veränderung der Stromasubstanz zurückzuführen; bei entsprechenden Versuchen mit spezifischer Lyse von Hammelblutkörperchen konnte keinerlei Beeinflussung des Hämoglobins in der obigen Richtung gefunden werden.

Es wurden an den Lysaten unter Einwirkung der verschiedenen Ionen auch Messungen der *Viscosität* vorgenommen, deren Anstiege ja ebenfalls nach den eingehenden Untersuchungen *Paulis* und seiner Mitarbeiter die Aufladung eines Kolloids anzeigt. Es bedurfte hierzu hochkonzentrierter, stromatafreier Lysate. Die hohe Viscosität stromatahaltiger Lysate beruht in erster Linie auf den Stromata. Nach ihrer Entfernung durch Filtrierung fällt die Viscosität stark ab; so zeigt z. B. dasselbe 100 proz. Lysat mit Stromata eine Durchflußzeit von 240 Sek., nach Filtrierung von 150 Sek. Die hohen Lysatkonzentrationen wurden teils durch Lysierung von 200 proz. Blutkörperchensuspensionen mittels Wassers, teils, da die Filtration dieser Lysate äußerst langsam verläuft, durch Herstellung 10 proz. Lysates und Einengung seines Berkefeldfiltrats unter vermindertem Druck bei 18–20° erhalten. Beide Lösungen waren gleich brauchbar. H<sup>+</sup> und OH<sup>-</sup> (s. Tab. XV) bewirken wie bei anderen Eiweißkörpern auch am Hämoglobin ganz außerordentliche Viscositätssteigerungen<sup>2)</sup>. Auch mit anderen Hämolytika, wie HgCl<sub>2</sub> und Rose bengale wurden erhebliche Steigerungen erhalten, z. B. Steigerung der relativen Viscosität 100 proz. Lysats durch  $\frac{1}{40}$  mol. HgCl<sub>2</sub> von 1,77 (ohne Zusatz) auf 2,2; durch  $\frac{1}{30}$  mol. Rose bengale von 1,76 auf 2,5. Diese starken Viscositätszunahmen treten bei allen untersuchten Ionen ziemlich plötzlich von einer bestimmten Kon-

<sup>1)</sup> Z. B. bei Saponin: Lysegrenze für 1% Blutkörperchen 0,001%, Flockungsenze 1%.

<sup>2)</sup> Bezgl. Steigerung des osmot. Drucks von Hb-Lösungen durch H<sup>+</sup> und OH<sup>-</sup> siehe *Moore* und *Roaf*, Kolloidzeitschr. **13**, 133. 1913.

zentration an steil ansteigend ein. Wie Parallelversuche mit gleichkonzentrierten Blutkörperchensuspensionen ergaben (Tab. XV), genügen zur vollständigen Lyse wie zur Aufhebung der Fällbarkeit schon erheblich unterhalb dieses Viscositäts-sprunges gelegene Ionenkonzentrationen. Der Viscositätsanstieg fällt vielmehr mit der Umwandlung des Blutfarbstoffs in Hämatin und dem Auftreten hydrophober Eigenschaften (Fällung bei Neutralisierung) zusammen. Zugleich zeigt sich in diesem Bereich ein deutliches Fortschreiten der Viscositätszunahme mit der Zeit, was auf eine Aufspaltung des Hämoglobinmoleküls als gemeinsame Ursache der verschiedenen zusammenhängenden Erscheinungen hinweist (siehe weiter Kap. IV).

#### IV. Der Mechanismus der Ionenwirkung auf das Hämoglobin.

In den vorausgehenden Versuchen wurden am Hämoglobin dieselben Zustandsänderungen gefunden, wie sie unter Einwirkung der gleichen Ionen auch an anderen Eiweißkörpern beobachtet sind. Es lassen sich daher auch die Anschauungen, die sich in der allgemeinen Eiweißchemie über die Reaktion dieser Ionen mit den Eiweißkörpern gebildet haben, auf die Verhältnisse am Hämoglobin übertragen. Den zur Lyse führenden Aufladungsvorgang kann man sich entweder als eine Adsorption des lysierenden Ions an die neutralen Kolloidteilchen oder als eine chemische Umsetzung vorstellen, bei welcher infolge der Ampholytnatur des Eiweißes Eiweißionen entstehen, die mit dem lysierenden Ion gleichsinnig geladen sind. Der vom *chemischen Standpunkt* aus anzunehmende Mechanismus ist für die Reaktion der Eiweißkörper mit  $H'$  und  $OH'$  durch die Arbeiten von *Pauli*, *Michaelis* und *Sörensen* weitgehend klargelegt<sup>1)</sup>. Auch für andere Ionen sind prinzipiell dieselben direkten Reaktionsmöglichkeiten mit dem Eiweiß anzunehmen wie für  $H'$  und  $OH'$ .

Bei Metall- und Farbstoffionen ist neben ihrer direkten Umsetzung mit dem Hämoglobin auch noch mit einer Mitwirkung von  $H'$  (bei Kationen) bzw.  $OH'$  (bei Anionen) zu rechnen, die in den Lösungen der betreffenden Salze als Folgen hydrolytischer Spaltung von vornherein in mehr oder weniger großem Umfange vorhanden sind, außerdem bei ihrer etwaigen Bindung z. B. durch das Hämoglobin nach Maßgabe des Massenwirkungsgesetzes immer wieder neu gebildet werden. Infolge der übereinstimmenden Ladung des hydrolytisch entstehenden Ions mit dem jeweiligen Hauptagens wird sich diese Nebenwirkung in der gleichen Richtung bewegen wie die Hauptwirkung.

Nach den Versuchen über „*Ionenadsorption*“ und über die Ionenwirkung auf die Lage des Flockungsbereichs von Eiweißkörpern<sup>2)</sup> besteht kein prinzipieller Unterschied zwischen dem Adsorptionsvorgang bei den verschiedenen Ionen, auch nicht zwischen der Adsorption der aufladenden und der zu keiner Aufladung führenden Ionen.

<sup>1)</sup> Siehe die neue zusammenfassende Darstellung *Paulis* in: Kolloidchemie der Eiweißkörper, 1920.

<sup>2)</sup> *Michaelis* und *Rona*, Biochem. Zeitschr. **94**, 255; **97**, 55; **102**, 275; und *Michaelis*, ebenda **103**, 225.

Aufladung ist nur die Folge einer relativ stärkeren Adsorbierbarkeit einer Ionenart gegenüber den andern im Reaktionsmedium vorhandenen, zu ihr gegensinnig geladenen Ionen.

Bei den *nicht aufladend wirkenden Neutralsalzen* z. B. ist die Adsorbierbarkeit beider Ionen gering und nicht oder kaum verschieden, weshalb es bei neutralem Adsorbens von den allerersten Salzzusätzen an zu einer annähernd äquivalenten und daher nicht aufladenden — im Ganzen außerdem nur geringfügigen — Anlagerung von Anion und Kation kommt. Chemisch betrachtet stellt sich dies als eine Komplexsalzbildung dar, wobei bei eiweißartigen Adsorbentien, wie schon erwähnt, als Ort der Anlagerung von Anion und Kation in erster Linie der Stickstoff in Betracht kommen dürfte, dessen bekannte Eignung zur gleichzeitigen Anlagerung entgegengesetzt geladener Ionen vielleicht auf der Zwitternatur seiner hierbei in Tätigkeit tretenden 4. und 5. Valenz beruht ( $\equiv N^{\pm}$ )<sup>1)</sup>.

Bei *aufladend wirkenden Elektrolyten* wird das — durch das am stärksten adsorbierbare Ion — positiv oder negativ aufgeladene Hämoglobin bei Vermehrung der Konzentration des Elektrolyten durch Anlagerung auch des gegensinnig geladenen Ions oder chemisch gesprochen, durch Einschränkung der Dissoziation des Eiweißkomplexsalzes entladen und ausgefällt<sup>2)</sup>. Die in denselben Ionenkonzentrationen wie die Hämoglobinfällung erfolgende Fixierung der Blutkörperchen beruht also auf der Bildung eines neutralen bzw. nicht dissoziierten Hämoglobin-Kation-Anion-Komplexes. Auch Vermehrung der zum aufladenden gegensinnig geladenen Ionen durch Konzentrationserhöhung anderer Salze des Reaktionsgemisches muß natürlich ebenfalls entladend wirken; hierauf beruht z. B. die Fällungsverstärkung des  $HgCl_2$  durch NaCl-Zusatz. Diese entladende Wirkung der gegensinnig geladenen Ionen muß ferner um so stärker sein, je größer wiederum ihre Adsorbierbarkeit ist: daher die besonders starke Förderung der fällenden und der fixierenden Wirkung bei Kationen durch  $OH'$ , bei Anionen durch  $H'$ .

Über die *quantitativen Verhältnisse der  $H'$ - und  $OH'$ -Reaktion mit den Blutkörperchenbestandteilen* geben Versuche Auskunft, bei welchen 10proz. Lysate in aufsteigender Reihe mit NaOH bzw. HCl versetzt und darin elektrometrisch die sich einstellenden  $H'$ -Konzentrationen bestimmt wurden. Die hierbei erhaltenen Meßergebnisse verschiedener Versuchsreihen sind in Tab. XVI zusammengestellt. Durch Abzug der bei der Messung gefundenen  $H'$ - bzw. der daraus berechneten  $OH'$ -Konzentrationen von der Gesamtkonzentration der zugesetzten  $H'$ - und  $OH'$ -Mengen ergab sich die gebundene H- und OH-Menge. Auf Grund hiervon wurde die nebenstehende Bindungskurve gezeichnet;

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu *Nernst*, Theoretische Chemie, 8.—10. Aufl., S. 440. 1921.

<sup>2)</sup> *Pauli und Flecker*, Biochem. Zeitschr. **41**, 501.

auf der Abscisse sind die gemessenen  $H'$ -Konzentrationen in Form ihres Logarithmus abgetragen, auf der Ordinate die gebundenen  $H$ - bzw.  $OH$ -Konzentrationen ebenfalls in Form ihres Logarithmus. Wie aus dem steilen Abfall der Kurve hervorgeht, werden die ersten kleinen  $H'$ - und  $OH'$ -Zusätze sehr vollständig gebunden. Dann geht die Kurve beiderseits in einen mehr wagrechten Teil über; die im genuine Lysat zur Verfügung stehenden basischen und sauren Gruppen sind hier also bereits weitgehend durch  $H$  und  $OH$  gesättigt. Die Kurve stellt hier außerdem annähernd eine Gerade dar; die Bindung folgt in diesem Bereich also dem Adsorptionsgesetz. In den Endteil dieses Kurvenabschnittes fallen die Grenzkonzentrationen für vollständige Lyse. Die Bindungsfähigkeit steigt dann auf der Säureseite nahe bei  $4 p_H$  fast sprunghaft auf den 2–3fachen Betrag; auf der Laugenseite nimmt sie von etwa  $10,0 p_H$  an langsam stetig zu. Mit dieser Zunahme der  $H$ - und  $OH$ -Bindung steht offenbar auch die Beobachtung von *Michaelis* und *Airila*<sup>1)</sup>

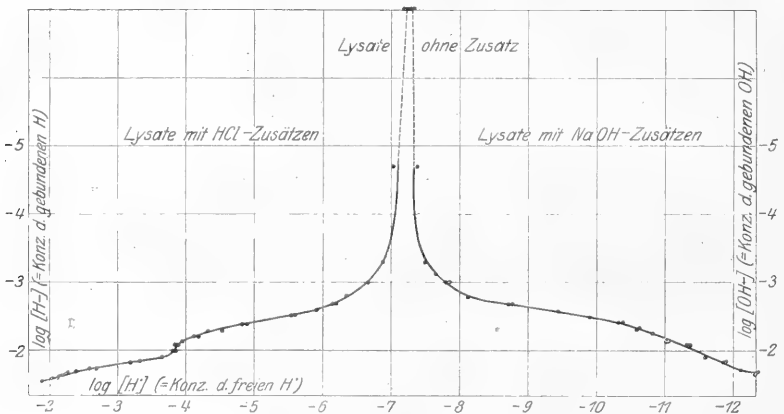


Abb. 1.  $H$ - und  $OH$ -Bindung durch 10% Lysat.

in Zusammenhang, die bei der quantitativen Verfolgung der Hämoglobinüberführung im elektrischen Stromgefälle zwischen 4 und  $5 p_H$  und ebenso zwischen 9 und  $10 p_H$  ein neuerliches Ansteigen der Wanderungsgeschwindigkeit des Hämoglobins fanden, was sie mit einer stufenweisen Dissoziation des Hämoglobins erklärten.

Mit diesem Wiederanstieg der Bindungsfähigkeit zeigt sich nun die Bildung von *Hämatin* aufs engste verknüpft (vgl. Tab. XVI). In den säureversetzten Mischungen ist sie zur Zeit der Messung vor dem plötzlichen Anstieg der Bindungsfähigkeit nur eben angedeutet, darnach so gut wie maximal. In den Laugemischungen dagegen steigt von etwa  $10,0 p_H$  an die Hämatinbildung ebenso wie die  $OH'$ -Bindung nur ganz

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **118**, 144. 1921.

allmählich an. Als Ursache der Hämatinbildung ist seit langem die Spaltung des Oxyhämoglobins erkannt. Allerdings stellt die Hämatinbildung als solche nur eine sekundäre Begleiterscheinung der Blutfarbstoffspaltung dar, da, wie schon *Hoppe-Seyler* gezeigt hat, bei vollständiger  $O_2$ -Abwesenheit nicht Hämatin, sondern Hämochromogen abgespalten wird. Unter gewöhnlichen Bedingungen (Oxyhämoglobinanwesenheit) tritt jedoch wegen der außerordentlichen Oxydabilität des Hämochromogens die Hämatinbildung so rasch ein, daß sie als ein sehr feines Maß einer wenn auch nur spurenweise stattgefundenen Hämoglobinspaltung angesehen werden kann.

Werden ferner die mit HCl bzw. NaOH versetzten Lysate nach 48stündiger Einwirkungszeit bei Zimmertemperatur mit äquivalenten Zusätzen von NaOH bez. HCl versetzt, so tritt, wie aus der Tab. XVI zu entnehmen ist, in den Mischungen, die vor der Neutralisation maximale Hämatinbildung gezeigt haben, sofort starke Trübung ein. *Es entsteht also durch Einwirkung höherer H'- bzw. OH'-Konzentrationen bereits bei Zimmertemperatur wie bei anderen Eiweißkörpern<sup>1)</sup> auch beim Hämoglobin ein durch Neutralisation nicht mehr reversibles Produkt, das sich im neutralen Zustand hydrophob verhält.* Seine Bezeichnung als Acidhämoglobin (*Harnack*) bzw. Alkalihämoglobinat würde diesem Verhalten durchaus entsprechen. Die Entstehung des Denaturierungsproduktes steht auch hier, ebenso wie bei der Hitzedenaturierung, in engstem Zusammenhang mit der Hämatinbildung. Die Gesamtheit dieses so entstandenen Denaturats zeigt, mittels Phosphatpuffergemengen auf verschiedene H'-Konzentrationen gebracht, denselben um den Neutralpunkt liegenden Flockungsbereich wie das durch Hitze entstandene. Der Flockungsbereich stellt gleichzeitig die Umschlagszone der beiden verschiedenfarbigen Blutfarbstoffmodifikationen dar. Bei höherer H'-Konzentration, also als Kation, zeigt das Denurat Farbe und Spektrum des braunen, bei niederer H'-Konzentration, als Anion, Farbe und Spektrum des roten Hämatins. Beide Modifikationen lassen sich durch Säure bzw. Lauge über ihren Flockungspunkt hinweg beliebig ineinander überführen. Auf der Oxydation des Farbstoffanteils des Hämoglobins als solcher kann das hydrophobe Verhalten nicht beruhen, da ja bei der Methämoglobinbildung eine ganz analoge Oxydation am genuinen Hämoglobin stattfindet ohne daß seine hydrophile Natur verloren geht. Es kann gerade das hydrophile oder hydrophobe Verhalten einer Blutfarbstofflösung als charakteristisches Unterscheidungsmerkmal dafür dienen, ob eine Methämoglobin- oder eine Hämatinbildung vorliegt. Man darf wohl als sicher annehmen, daß die Entstehung des hydrophoben Produktes ebenso wie die mit ihr Hand in Hand gehende Hämatin-

<sup>1)</sup> Vgl. *Cohnheim*, *Chemie d. Eiweißkörper*, 3. A., 1911, S. 84ff., ferner auch *Michaelis* und *Rona*, *Biochem. Zeitschr.* **29**, 494. 1910.

bildung mit der Spaltung des Hämoglobinmoleküls zusammenhängt; für eine solche allmählich sich vollziehende Spaltung des Hämoglobins im aufgeladenen Zustand sprach ja auch die allmähliche Zunahme der Viscosität in diesem Bereich; auch das Ansteigen der Bindungsfähigkeit der Lysate bei höheren H<sup>+</sup>- und OH<sup>-</sup>-Konzentrationen wird wohl damit zusammenhängen. Daß der mittels Säurespaltung und Extraktion des Hämatins durch Ätheralkohol erhaltene Eiweißanteil des Hämoglobins hydrophober Natur ist, ist schon aus den Untersuchungen von *Schulz*<sup>1)</sup> zu entnehmen.

Auch diejenigen Mischungen der obigen Versuchsreihe, die neben Hämatin noch deutlich Farbe und Spektrum des Oxyhämoglobins erkennen lassen und bei der Neutralisation klar geblieben sind, lassen an einer erheblich erhöhten Fällbarkeit durch Hitze (starke Flockung schon ab 51°) wie durch Alkohol das Vorhandensein eines gewissen Betrages an hydrophobem Denaturat erkennen. Dieselben Eigenschaften wie diese Mischungen hydrophilen und hydrophoben Kolloids (klare Lösung, dabei aber deutliches Hämatinspektrum und erhöhte Hitze- und Alkoholfällbarkeit) zeigen auch Lysate nach Filtration durch sehr dichte Berkefeldkerzen<sup>2)</sup>. Auch bei mehrwöchentlicher Dialyse von Hämoglobinlösungen entsteht, wie aus den Untersuchungen von *Bottazzi*<sup>3)</sup> hervorgeht, Hämatin; der Blutfarbstoff fällt schließlich vollständig aus. Es wird dadurch die Frage nahegelegt, ob vielleicht auch die erhöhte Fällbarkeit durch Hitze und Alkohol, die andere hydrophile Kolloide bei lang fortgesetzter Dialyse allmählich zeigen, nicht wie *Pauli* annimmt mit der größeren Reinheit (Salzfreiheit), sondern mit dem Auftreten hydrophober Spaltungsprodukte zusammenhängt. Daß ganz allgemein die ersten, selbst noch hochkolloidalen Abbauprodukte der genuinen, hydrophilen Eiweißkörper hydrophober Natur sind und daß im geraden Gegensatz zu den Hypothesen von *Herzfeld* und *Klinger*<sup>4)</sup> die Stabilität von Eiweißlösungen bei Vorhandensein dieser Spaltungsprodukte nicht erhöht, sondern erniedrigt ist, steht, worauf hier nicht näher eingegangen werden kann, auch mit einer Reihe anderer Tatsachen der Eiweißchemie in bestem Einklang und dürfte für die Klärung vieler Beobachtungen der neueren Serumforschung<sup>5)</sup> von Bedeutung sein.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**, 449. 1898.

2) Mit jeder Wiederholung der Filtration wird die Menge dieses hydrophoben Kolloids größer. — Um ein solches Hämoglobindenaturat und nicht etwa um präformiertes Globulin handelt es sich wohl auch bei den kürzlich von *Chodat* (vgl. Ber. d. ges. Physiol. **10**, 548. 1922) nach Filtration von Lysaten im Filtrat gefundenen globulinartigen Substanzen.

3) Zit. nach *Bechhold*, loc. cit. S. 177.

4) Biochem. Ztschr. **83**, 228.

5) Vgl. *Sachs u. v. Oettingen*, M. M. W. 1921 S. 351.

Will man versuchen, eine *praktische Nutzenanwendung* aus den vorstehenden Ergebnissen zu ziehen, so dürften hierfür vor allem die Beobachtungen über die gegensätzlichen, einerseits in Fixierung, andererseits in Cytolyse sich äußernden Veränderungen der Zellen durch Ionen und über die reversible Beeinflußbarkeit der Zellstromasubstanz, in Betracht kommen, — so weit natürlich Schlüsse von den Blutkörperchen auf andere Zellen erlaubt sind.

Von den Wirkungen der Ionen auf andere Zellen müssen die Erscheinungen der *Entzündungserregung, Atzung und Desinfizierung*, da gerade die stark hämolyzierenden Ionen wie  $Hg^{++}$ ,  $Cu^{++}$  auch in diesen Richtungen besonders stark wirksam sind, wohl in erster Linie als cytolytische Vorgänge angesehen werden, wenigstens soweit es sich dabei um *akut* verlaufende Zellestruierung handelt. Für die *Adstringierung* kommt dagegen naturgemäß nur die fallende Wirkung in Betracht. Die beiden gegensätzlichen, einesteils fallenden, anderenteils cytolysierenden Wirkungsmöglichkeiten sind bei den einzelnen Ionen jede in verschiedenem Grade ausgeprägt, was der von *Schmiedeberg* aufgestellten Reihenfolge der Metalle hinsichtlich ihrer adstringierenden und ihrer ätzenden Wirkung zugrunde liegt. Bei jedem einzelnen Ion tritt jedoch die cytolysierende Wirkung bereits in niedrigeren Konzentrationen auf wie die fallende. Daher kommt es, daß Metalle, die auch nur einigermaßen lysierende Wirkung besitzen, zur Adstringierung auch in den kleinsten Dosen nicht brauchbar sind. Wir haben ferner gesehen, daß die Wirkung eines Salzes nach der einen oder anderen Richtung auch noch von der Art und der Konzentration der übrigen im Reaktionsmedium vorhandenen Ionen abhängt, wobei im allgemeinen mit Förderung der cytolysierenden eine Hemmung der fallenden Wirkung und umgekehrt verknüpft ist. Ganz besonders starken Einfluß haben hierbei die  $H^+$ - und  $OH^-$ -Ionen. So kommt es zu der ganz allgemein nachzuweisenden Erscheinung, daß, abgesehen von den allerniedersten Konzentrationen, die cytolytische Wirkung der Kationen mit Zunahme der  $H^+$ -Konzentration, die fallende Wirkung mit ihrer Abnahme gefördert wird, während die Anionen sich hierin gerade umgekehrt verhalten. So wird man ganz allgemein damit rechnen können, die zellzerstörende Wirkung der Ionen durch Herstellung geeigneter Reaktionsbedingungen beschleunigen zu können. Ebenso können unter geeigneten, eventuell künstlich herzustellenden Reaktionsbedingungen Adstringierungseffekte mit Ionen erzielt werden, die, wie z. B. die nur in relativ engem Reaktionsbereich adstringierend wirkenden Gerbsäure-Anionen, an und für sich, d. h. im Vergleich mit den stark lysierend wirkenden Ionen als relativ wenig wirksam anzusehen sind, gerade aber deshalb besser wie die lysierenden Ionen zu einer therapeutischen Verwendung brauchbar sind.

Der bei der Adstringierung angestrebte therapeutische Effekt wird vielleicht noch in vollkommenerer Weise erreicht bei der, wie wir gesehen haben, zu einer bedeutenden Erhöhung der Zellresistenz gegenüber cytolytischen Agentien führenden Dehydratation bzw. Fällung der Zellstromasubstanz, wie sie durch sehr kleine Mengen von Kationen und durch Salzzug in *reversibler* Weise eintritt. Hierin liegt möglicherweise die bewährte Anwendung der Aluminiumsalze bei der Wundbehandlung begründet, die ja gerade in dieser Richtung besonders stark wirksam sind. Durch eine Herabsetzung des Salzgehalts eines Gewebes müßte übrigens ebenfalls eine derartige Resistenzerhöhung der Zellen zu erreichen sein.

### Zusammenfassung.

Eine Reihe von Elektrolyten, wie Säuren, Laugen, Metall- und Farbstoffsalzen, zeigen gegenüber roten Blutkörperchen teils übereinstimmende, teils für Anionen und Kationen in charakteristischer Weise

verschiedene Wirkungen. Übereinstimmung besteht insofern, als sowohl Elektrolyte mit wirksamem Anion wie solche mit wirksamem Kation in mittleren Konzentrationen lysierend und in höheren Konzentrationen unter bestimmten Reaktionsbedingungen fixierend und gleichzeitig agglutinierend wirken. Scharf unterscheidet sich jedoch Anionen- und Kationenwirkung dadurch, daß diese fixierende Wirkung bei Kationen mit Zunahme der  $\text{OH}'$ -, die der Anionen mit Zunahme der  $\text{H}'$ -Konzentration gefördert wird bzw. bei den letzteren erst bei saurer Reaktion auftritt. Gewissen Kationen eigentümlich ist außerdem eine in niederen, zum Teil noch unterlytischen Konzentrationen eintretende, ohne Fixierung einhergehende Agglutinationswirkung. Im Rahmen ihres gemeinsamen Wirkungstypus zeigen die einzelnen Ionen erhebliche graduelle Unterschiede, was bei den Metallsalzen besonders darin zum Ausdruck kommt, daß die lysierende Wirkung um so mehr gegenüber der fixierenden hervortritt, je edler das Metall ist.

Eine Untersuchung der mit den Veränderungen der ganzen Zellen parallel gehenden physikalisch-chemischen Zustandsänderungen der einzelnen Blutkörperchenbestandteile (Stromasubstanz und Hämoglobin) führte zu folgenden Ergebnissen über den Mechanismus dieser verschiedenen Zellwirkungen.

*Die ohne Fixierung einhergehende Agglutinationswirkung sehr niedriger Kationenkonzentrationen* beruht auf einer Flockung der Stromata in und um ihren (elektrophoretisch bestimmten) isoelektrischen Punkt. Während die Salze der dreiwertigen Metalle auch in der gewöhnlichen 0,9proz. Kochsalzlösung flockend wirken, werden die Stromata wie die Körperchen durch andere Kationen wie  $\text{H}'$ ,  $\text{Hg}''$ , nur in *elektrolytarmem* Medium geflockt. Es beruht dies darauf, daß die Flockung der Stromata in ihrem ganzen Flockungsbereich, auch in ihrem isoelektrischen Punkte, durch  $\text{NaCl}$  und andere Neutralsalze gehemmt wird; die außerdem unter  $\text{NaCl}$  eintretende Verschiebung des isoelektrischen Punktes nach der sauren Seite ist für diese Hemmung von keiner wesentlichen Bedeutung.

Der Flockung der Stromata durch Ionen liegt eine *Fällung der Stromasubstanz in jeder einzelnen Zelle* zugrunde, die mikroskopisch in deutlichem Sichtbarwerden des Zellgerüsts, außerdem in starker Erhöhung der Zellresistenz gegenüber lytischen Agentien zum Ausdruck kommt.

Die Stromasubstanz verhält sich also, analog den Globulinen, im natürlichen elektrolytreichen Medium wie ein hydrophiles Kolloid. Zu ihrer Flockung und damit zur Agglutination der Zellen müssen daher zwei Bedingungen erfüllt sein: 1. Dehydratation der Stromasubstanz, 2. Herstellung isoelektrischer Reaktion.

Im Gegensatz hierzu ist die *Fixierung und die mit Fixierung verknüpfte Agglutination der Körperchen* durch hohe Ionenkonzentrationen und ebenso die bereits in mittleren Konzentrationen von Kationen und Anionen



erfolgende Lyse ausschließlich von einer Zustandsänderung des Hämoglobins abhängig. Der Fixierung geht eine Fällung, der Lyse eine entgegengesetzte, sich in Hemmung bzw. Aufhebung der Hitze- und Alkoholfällbarkeit äußernde Veränderung des Hämoglobins parallel. Auf Grund der bisherigen Ergebnisse der allgemeinen Eiweißchemie kann somit die Lyse als Folge einer durch Aufladung eintretenden Hydratationssteigerung des Hämoglobins angesehen werden. Die Aufladung erfolgt durch adsorptive bzw. chemische Anlagerung des lysierenden Ions. Ist die Konzentration der zum aufladenden *gegensinnig* geladenen Ionen im Reaktionsmedium genügend groß bzw. sind ebenfalls stark adsorbierbare *gegensinnig* geladene Ionen vorhanden, kommt es an Stelle der Aufladung durch ihre Mitanolagerung zur Bildung eines neutralen, ausfallenden Hämoglobin-Kation-Anion-Komplexes. Hierauf beruht die Fixierung der Zellen und ihre Förderung bei Kombination stark adsorbierbarer Kationen mit OH' bzw. von Anionen mit H.

Die Aufladung des Hämoglobins beschleunigt die Denaturierung durch Hitze und Alkohol und führt auch für sich allein schon, besonders rasch bei H<sup>-</sup>, etwas langsamer bei OH'-Aufladung zu einer irreversiblen Veränderung, die sich durch Auftreten von *Hämatin* und durch das Zeichen eingetretener Dehydratation (Ausfall bei Neutralisierung) kundgibt. Es handelt sich dabei offenbar um eine Spaltung des Hämoglobinmoleküls. Das so entstandene hydrophobe Produkt hat denselben Flockungsbereich wie das Hitzedenaturat; als Kation zeigt das Denaturat Farbe und Spektrum des braunen, als Anion Farbe und Spektrum des roten Hämamins. Der Denaturierungsvorgang und damit die Hitzefällung des Hämoglobins wird durch Kochsalz von den niedersten Konzentrationen an stark gefördert.

### Versuchsbeispiele.

#### Allgemeine Zeichenerklärung.

A = Agglutination.	— = keine Wirkung.
L = Lyse.	( ) = angedeutete Wirkung.
F = Fixierung.	Einfaches Zeichen = schwache Wirkung.
H = Hämatinbildung.	Doppeltes Zeichen = starke bzw. maximale Wirkung (z. B. LL = vollständige Lyse).
X = Flockung im Lysat.	
br. Fl. = braune Flöckchen.	

Weitere Zeichen sind bei den betreffenden Versuchen erklärt.

Tabelle I. Wirkung von NaOH auf Blutkörperchen und auf stromatafreies Lysat.

NaOH-Konz. (Mol im Liter)	Körperchen-Verhalten bei 18°	Flockung des Lysats bei 60° mit		Flockung des Lysats durch Alkohol (50%) mit	
		0,9% NaCl	0,09% NaCl	0,9% NaCl	0,09% NaCl
A. Konzentration der Blutkörperchen bzw. des Lysats 1%.					
0	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX (40 Min.)	X	XX	X
$\frac{1}{50000}$	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	X	XX	X
$\frac{1}{25000}$	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	X	XX	X
$\frac{1}{12800}$	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	X	XX	X
$\frac{1}{6400}$	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	(X)	XX	X
$\frac{1}{3200}$	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	(X)	XX	X
$\frac{1}{2400}$	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	(X)	XX	(X)
$\frac{1}{2000}$	A—, 48 Std. (L), 48 Std. H—	XX	(X)	XX	(X)
$\frac{1}{1600}$	A—, 48 Std. L, 48 Std. H—	XX (10 Min.)	(X)	X	(X)
$\frac{1}{1200}$	A—, 12 Std. LL, 48 Std. H—	XX (10 Min.)	—	(X)	—
$\frac{1}{800}$	A—, 4 Std. LL, 48 Std. (H)	X (20 Min.)	—	—	—
$\frac{1}{400}$	A—, 4 Std. LL, 48 Std. (H)	(X)	—	—	—
$\frac{1}{200}$	A—, 1 Std. LL, 48 Std. H	—	—	—	—
$\frac{1}{100}$	A—, $\frac{1}{2}$ Std. LL, 3 Std. H— 48 Std. H	—	—	—	—
$\frac{1}{50}$	A—, $\frac{1}{4}$ Std. LL, 3 Std. H 48 Std. HH	—	—	—	—
$\frac{1}{25}$	A—, $\frac{1}{4}$ Std. LL, 3 Std. HH	—	—	—	—
B. Konzentration der Blutkörperchen bzw. des Lysats: 10%.					
$\frac{1}{800}$	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	XX	XX	XX
$\frac{1}{400}$	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	X	XX (1 Min.)	X
$\frac{1}{300}$	A—, 48 Std. L, 48 Std. H—	XX	X	XX	X
$\frac{1}{200}$	A—, 24 Std. LL 48 Std. H—	XX	—	XX (15 Min.)	—
$\frac{1}{100}$	A—, 1 Std. LL, 48 Std. H—	—	—	—	—
$\frac{1}{50}$	A—, $\frac{1}{2}$ Std. LL, 48 Std. H	—	—	—	—
$\frac{1}{25}$	A—, $\frac{1}{2}$ Std. LL, 24 Std. H 48 Std. HH	—	—	—	—

Tabelle II. Wirkung von Rose bengale auf Blutkörperchen und auf stromatafreies Lysat. Konzentration der Blutkörperchen und des Lysats: 1%.

Rose bengale-Konz. (Mol i. Liter)	Körperchen-Verhalten bei 18°	Flockung im Lysat bei 60° mit	
		0,9% NaCl	0,09% NaCl
0	A—, 48 Std. L—	XX (40 Min.)	X
$\frac{1}{50000}$	A—, 48 Std. L—	XX	X
$\frac{1}{25000}$	A—, 48 Std. L—	XX	X
$\frac{1}{12800}$	A—, 24 Std. LL	XX (10 Min.)	X

Tabelle II (Fortsetzung).

Rose bengale-Konz. (Mol i. Liter)	Körperchen-Verhalten bei 18°	Flockung im Lysat bei 60° mit	
		0,9% NaCl	0,09% CaCl
1/6400	A—, 6 Std. LL	XX (10 Min.)	(X)
1/3200	A—, 6 Std. LL	X (20 Min.)	—
1/1300	A—, 1/2 Std. LL	—	—
1/800	A—, 5 Min. LL	—	—
1/400	A—, 5 Min. LL	—	—
1/200	A—, 5 Min. LL	—	—
1/100 bis 1/10	A—, 5 Min. LL	—	—

Tabelle III.

Wirkung von ölsaurem Natrium auf Blutkörperchen und auf stromatafreies Lysat. Konzentration der Blutkörperchen und des Lysats: 1%.

Natr.-olein.-Konz. (Mol im Liter)	Körperchen-Verhalten bei 18°	Flockung im Lysat bei 60° (0,9% NaCl)
1/50000	A—, 48 Std. L—	XX
1/25000	A—, 12 Std. LL	XX
1/12800	A—, 6 Std. LL	XX
1/6400	A—, 1 Std. LL	XX
1/3200	A—, 5 Min. LL	X
1/1600	A—, 5 Min. LL	—
1/800 bis 1/10	A—, 5 Min. LL	—

Tabelle IV.

Wirkung von HCl auf Blutkörperchen und auf stromatafreies Lysat. Konzentration der Körperchen und des Lysats: 1%.

HCl-Konz. (Mol im Liter)	Körperchen-Verhalten bei 18°	Flockung im Lysat bei 60°	
		0,9% NaCl	Flockung im Lysat durch Alkohol (50%)
0	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	XX
1/50000	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	XX
1/25000	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	XX
1/12800	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	XX
1/6400	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	XX
1/3200	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	XX
1/2400	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	XX	XX
1/2000	A—, 24 Std. LL, 48 Std. (H)	X	X
1/1600	A—, 6 Std. LL, 24 Std. (H) 48 Std. H	X	X
1/1200	A—, 24 Std. LL, 24 Std. H 48 Std. HH	(X)	(X)
1/800	A—, 1/2 Std. LL, 1 Std. HH	—	—
1/400	A—, 1/2 Std. LL, 1 Std. HH	—	—
1/200	A—, 1/4 Std. LL, 1 Std. HH	—	—
1/100 b. 1/10	A—, 1/4 Std. LL, 1 Std. HH	—	—

Tabelle V. Wirkung von  $HgCl_2$  auf Blutkörperchen und Lysat.  
Konzentration der Blutkörperchen und des Lysats: 1%.

Hg <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -Konz. (Mol im Liter)	Körperchen-Verhalten bei 18°	Flockung im Lysat bei			
		18° (0,9% NaCl) m. Stromat.	60° (0,9% NaCl) ohne Stromata	60° (0,09% NaCl)	d. Alkohol 50% (0,09% NaCl)
0	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	—	30' XX	45' X	5' XX
1/200000	A—, 48 Std. L—, 48 Std. H—	—	30' XX	45' X	5' XX
1/100000	A—, 48 Std. LL, 48 Std. H—	—	30' XX	45' X	5' XX
1/50000	A—, 24 Std. LL, 48 Std. H—	—	15' XX	15' X	2' XX
1/25000	A—, 4 Std. LL, 48 Std. H—	—	10' XX	10' XX	2' XX
1/12800	A—, 12 Std. LL, 48 Std. H—	—	30' XX	45' X	2' XX
1/6400	A—, 24 Std. LL, 48 Std. H—	—	30' XX	45' X	5' X
1/3200	A—, 24 Std. LL, 48 Std. H—	—	10' XX	45' X	5' X
1/1600	A—, 48 Std. LL, 48 Std. H	—	5' XX	60' (X)	—
1/800	A—, 48 Std. L, 48 Std. H	—	1' XX	60' (X)	—
1/400	(A), 48 Std. (L), 48 Std. H	X	1' XX	60' (X)	—
1/200	(A), 48 Std. L—, 48 Std. F	XX	1' XX	60' (X)	—
1/100	(A), 48 Std. L—, 48 Std. F	XX	1' XX	60' (X)	—

Tabelle VI. Wirkung von  $Ag^+$ ,  $Cu^{++}$ ,  $Al^{+++}$  und  $Zn^{++}$  auf Blutkörperchen.  
Konzentration der Körperchen: 1%. Ablesung nach 24 Stunden.

Konz. der Metallsalze (Mol i. Liter)	$AgNO_3$	$CuCl_2$	$AlCl_3$	$ZnCl_2$	$Zn(C_2H_3O_2)_2$
1/200000	A—, L—, H—	A—, L—, H—	A—, L—, H—	A—, L—, H—	A—, L—
1/100000	A—, L, H—	A, L, H—	A, L—, H—	A—, L—, H—	A—, L—
1/50000	A—, LL, H—	A, L, H—	A, L—, H—	A—, L—, H—	A—, L—
1/25000	A—, LL, H—	AA, LL, H—	AA, L, H—	A—, L—, H—	A—, L—
1/12800	A—, LL, H—	AA, LL, H	AA, L, H	A—, L—, H—	A—, L—
1/6400	A—, LL, H—	AA, L, HH	AA, L, H	A—, L—, H—	A—, L—
1/3200	A—, LL, H—	AA, L, HH	AA, LL, HH	A—, L—, H—	A, L—
1/1600	LL, H	AA, (L), HH	AA, LL, HH	A, L—, H	A, L—
1/800	LL, H	AA, L—, F	AA, LL, HH	AA, L—, H	AA, L—,
1/400	LL, H	AA, L—, F	AA, LL, HH	AA, L—, H	AA, L—, F
1/200	LL, H	AA, L—, F	AA, L, HH	AA, L—, (H)	AA, L—, F
1/100	LL, H	AA, L—, F	AA, L—, F	AA, L—, F	AA, L—, F

Tabelle VII. Wirkung von  $FeCl_3$  auf Blutkörperchen und Lysat.  
Konzentration der Körperchen und des Lysats: 5%.

FeCl <sub>3</sub> -Konz. (Mol im Liter)	Körperchen-Verhalten bei 18°	Elektrische Ladung der Körperchen	Flockung im Lysat bei	
			18° mit Stromata	60° ohne Stromata
0	48 Std. A—, L—	Nach 1 Std.	Nach 1 Std.	XX
1/100000	48 Std. A—, L—	negativ	—	XX
1/50000	48 Std. A—, L—	negativ	—	XX
1/25000	48 Std. A—, L—	negativ	—	XX
1/12800	20 Min. A, 48 Std. L—	negativ	(X)	XX

Tabelle VII (Fortsetzung).

FeCl <sub>3</sub> -Konz. (Mol im Liter)	Körperchen-Verhalten bei 18°	Elektrische Ladung der Körperchen	Flockung im Lysat bei	
			18° mit Stromata	60° ohne Stromata
1/6400	10 Min. AA, 48 Std. L	neutral	X	XX
1/3200	10 Min. A, 60 Min. AA 3 Std. L, 48 Std. L	schwach pos.	X	XX
1/1600	60 Min. A, 48 Std. LL	positiv	—	(X)
1/800	60 Min. A, 6 Std. LL	positiv	br. Fl.	—
1/400	60 Min. A, 6 Std. LL	positiv	br. Fl.	—
1/200	10 Min. A, 3 Std. LL	positiv	br. Fl.	—
1/100	10 Min. A, 3 Std. LL	positiv	br. Fl.	—
1/50	10 Min. A, 1 Std. LL	positiv	br. Fl.	X
1/25	10 Min. A, 3 Std. LL	positiv	br. Fl.	XX
1/12.5	10 Min. A, 48 Std. L— F	schwach pos.	XX	XX

 Tabelle VIII. Wirkung der H<sup>+</sup>-Konzentration auf Blutkörperchen und auf stromatafreies Lysat.

Herstellung der Phosphatmischungen verschiedener H<sup>+</sup>-Konzentration. Zu Mischungen von 1,25 ccm 1/3 mol. primären und 1,25 ccm 1/3 mol. sekundären Natriumphosphats wurden 1, 2, 3 usw. ccm 1/10 n. NaOH bzw. HCl zugegeben und mit 1/10 n. NaCl auf 10 ccm aufgefüllt. Die daraus resultierenden Reaktionsgemenge sind im folgenden nach der Anzahl der zugesetzten ccm NaOH bzw. HCl mit 1 OH, 2 OH, bzw. 1 H, 2 H usw. bezeichnet. Die p<sub>H</sub>-Werte sind auf Grund einer größeren Anzahl elektrometrischer Messungen der reinen Phosphatmischungen in abgerundeten Mittelwerten angegeben; bei Blutkörperchen- bzw. Lysatzusatz treten Verschiebungen der p<sup>H</sup> um höchstens 0,1 nach dem Neutralpunkt zu ein.

Versuchsordnung: 10 ccm 1,5% Blutkörperchensuspension bzw. 1,5% Lysat + 5 ccm Phosphatmischung. Endkonzentration der Blutkörperchen somit 1%, des Phosphat 1/36 mol.; NaCl-Gehalt der Lysate = 0,9%.

Phosphat- mischungen	p <sub>H</sub>	Körperchen-Verhalten bei 18° Stand nach 48 Stunden	Flockung im Lysat	
			bei 60°	durch Alkohol (50%)
5,0 H	3,0	A—, LL, HH	—	—
4,5 H	3,5	A—, LL, HH	(X)	—
4,25 H	4,2	A—, LL, HH	X	X
4,125 H	4,6	A—, L, H	XX	XX
4,0 H	5,1	A—, (L), H	XX	XX
3,5 H	5,6	A—, L—, H—	XX	XX
3,0 H	6,0	A—, L—, H—	XX	XX
2,0 H	6,3	A—, L—, H—	XX	XX
0,0	6,8	A—, L—, H—	XX	XX
2,0 OH	7,2	A—, L—, H—	XX	XX
3,0 OH	7,6	A—, L—, H—	XX	XX
4,0 OH	8,2	A—, L—, H—	XX	XX
4,5 OH	8,8	A—, L, H—	XX	XX
4,75 OH	9,8	A—, LL, H—	X	X
5,0 OH	10,2	A—, LL, H—	(X)	X
6,0 OH	10,8	A—, LL, H—	—	—

Tabelle IX.

Wirkung von *Rose bengale* auf Blutkörperchen und auf stromatafreies Lysat bei verschiedener  $H^+$ -Konzentration.

Anordnung: 5 ccm 3% Blutkörperchensuspension bzw. 3% stromatafreies Lysat + 5 ccm Phosphatmischung (wie Tab. VIII) + 5 ccm *Rose bengale*-Lösung. Temperatur 18°.

Phosphatmisch.	Rose bengale-Gesamtkonzentration							
	$\frac{1}{100}$ mol.		$\frac{1}{1000}$ mol.		$\frac{1}{10000}$ mol.		$\frac{1}{30000}$ mol.	
	Körperchen	Lysat	Körperchen	Lysat	Körperchen	Lysat	Körperchen	
7,5 H	48 Std. L—	XX	1 Std. LL	br.Fl.	1 Std. LL	br.Fl.	1 Std. LL	
	F							
6,0 H	48 Std. L—	XX	1 Std. LL	br.Fl.	1 Std. LL	br.Fl.	1 Std. LL	
	F							
			A					
5,0 H	48 Std. L—	XX	48 Std. L—	XX	1 Std. LL	br.Fl.	1 Std. LL	
	F		F					
			A		AA			
4,0 H	48 Std. L	X	48 Std. L—	XX	24 Std. L—	—	20 Std. LL	
			F					
			A					
3,0 H	48 Std. L	—	48 Std. L—	XX	6 Std. LL	—	20 Std. LL	
			F					
2,0 H	48 Std. LL	—	48 Std. L—	X	3 Std. LL	—	48 Std. L	
			F					
0,0	1 Min. LL	—	5 Min. LL	—	4 Std. LL	—	48 Std. L—	
2,00H	1 Min. LL	—	5 Min. LL	—	8 Std. LL	—	48 Std. L—	
3,00H	1 Min. LL	—	10 Min. LL	—	24 Std. LL	—	48 Std. L—	
4,00H	1 Min. LL	—	10 Min. LL	—	48 Std. L	—	48 Std. L—	

Tabelle X.

Wirkung von  $HgCl_2$  auf Blutkörperchen und auf stromatafreies Lysat bei verschiedener  $H^+$ -Konzentration.

Anordnung: 5 ccm 3% Blutkörperchensuspension bzw. 3% stromatafreies Lysat + 5 ccm Phosphatmischung (wie Tab. VIII) + 5 ccm  $HgCl_2$ -Lösung. Temperatur 18°.

Phosphatmisch.	$HgCl_2$ -Gesamtkonzentration							
	$\frac{1}{300}$ mol.		$\frac{1}{3000}$ mol.		$\frac{1}{30000}$ mol.		$\frac{1}{100000}$ mol.	
	Körperchen	Lysat	Körperchen	Lysat	Körperchen	Lysat	Körperchen	
4 H	90 Min. LL	—	90 Min. LL	—	3 Std. LL	—	24 Std. LL	
3 H	24 Std. LL	—	18 Std. LL	—	5 Std. LL	—	24 Std. LL	
2 H	48 Std. L—	X	24 Std. LL	—	5 Std. LL	—	24 Std. LL	
	F							
0	48 Std. L—	X	30 Std. LL	—	6 Std. LL	—	24 Std. LL	
	F							
20H	48 Std. L—	XX	48 Std. L—	(X)	6 Std. LL	—	24 Std. LL	
	F							

Tabelle X (Fortsetzung).

Phosphatmisch.	HgCl <sub>2</sub> -Gesamtkonzentration						
	2/300 mol.		1/3000 mol.		1/30000 mol.		1/100000 mol.
	Körperchen	Lysat	Körperchen	Lysat	Körperchen	Lysat	Körperchen
3 OH	A 48 Std. L—	XX	A 48 Std. L—	X	12 Std. LL	—	24 Std. LL
	F		F				
4 OH	A 48 Std. L—	XX	A 48 Std. L—	XX	18 Std. LL	—	6 Std. LL
	F		F				
4,5 OH	AA 48 Std. L—	XX	A 48 Std. L—	XX	18 Std. LL	—	6 Std. LL
	F		F				
5 OH	AA 48 Std. L—	XX	AA 48 Std. L—	XX	3 Std. LL	—	3 Std. LL
	F		F				
6 OH	AA 48 Std. L—	XX	AA 1 Std. LL	—	1 Std. LL	—	1 Std. LL
	F						

Tabelle XI.

Wirkung von Hg<sup>++</sup> und Ag<sup>+</sup> auf Blutkörperchen und auf Lysat im Rohrzuckermedium.

Ablesung nach 48 Stunden. Konzentration der Körperchen und der Lysate: 2‰

Ionen-Konzentration (Mol im Liter)	1/30	1/90	1/270	1/810	1/2430	1/7290	1/22005	1/68055
HgCl <sub>2</sub> Körperchen bei 18°	AA L—	A L—	A L—	AA L—	AA L	A LL	(A) (L)	A— L—
Stomatahaltiges Lysat bei 18°	X	X	(X)	X	X	X	(X)	—
Stromatafreies Lysat bei 60°	(X)	(X)	(X)	(X)	(X)	X	XX	X
AgNO <sub>3</sub> Körperchen bei 18°		AA (L)	AA (L)	AA (L)	A L	A LL	A— L—	A— L—
Stomatahaltiges Lysat bei 18°		X	X	X	X	(X)	—	—
Stromatafreies Lysat bei 60°		—	—	—	(X)	XX	XX	X

Tabelle XII. Verhalten von Körperchen und Stromata bei Variation der H- und der NaCl-Konzentration.

A = Agglutination. E = Elektrische Ladung (auf Grund der Wanderung im Stromgefälle): n = negativ, p = positiv, 0 = neutral. L = Lyse, F = Flockung, T = nicht ausflockende Trübung, H = Hämatinbildung, X = Fällung der von den Stromata abgehobenen Lysate durch Kochen. Anordnung siehe Text.

$\frac{1}{3}$ ccm. 0,1 n Natr. acet. +		0,1	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2	6,4	1,3	2,6	0,5	1,0	
		ccm $\frac{1}{100}$ n Essigsäure						$\frac{1}{10}$ n E.		$\frac{1}{1}$ n E.			
$\varphi_H$ berechnet		6,4	5,9	5,6	5,3	5,0	4,7	4,4	4,1	3,8	3,5	3,2	
$\varphi_H$ gemessen (im Lysat)						5,1		4,5				3,1	
0,025% NaCl	Körperchen	A	(A)	A	A	A	AA	AA	AA	AA	AA	A	
	E	n	n	n	n	n	n	0	p	p	p	p	
	L	—	—	—	—	—	—	72 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	2 <sup>h</sup>	
								LL	L	L	LL	LL	
	n. 5 Min.	F	—	T	F	F	FF	FF	FF	FF	FF	FF	(br. Fl.)
	Lysat	E	—	—	—	n	n	n (p)	p	p	p	p	
	H	—	—	—	—	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	
	X	XX	XX	XX	XX	XX	X	—	—	—	—	HH	
0,075% NaCl	Körperchen	A	—	—	(A)	A	AA	AA	AA	AA	AA	—	
	E	n	n	n	n	n	n	n	(p)	p	p		
	L	—	—	—	—	—	—	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	2 <sup>h</sup>	
								LL	L	LL	LL	LL	
	n. 15 Min. <sup>1)</sup>	F	—	—	—	T	F	FF	FF	FF	FF	FF	(br. Fl.)
	Lysat	E	—	—	—	—	n	n	p	p	p	p	
	H	—	—	—	—	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	2 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	
	X	—	—	—	—	(H)	H	H	H	H	HH	HH	
0,25% NaCl	Körperchen	A	—	—	—	—	(A)	A	A	A	A	—	
	E	n	n	n	n	n	n	n	n	(p)	p		
	L	—	—	—	—	—	—	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	24 <sup>h</sup>	24 <sup>h</sup>	2 <sup>h</sup>	
								LL	LL	LL	LL	LL	
	n. 30 Min. <sup>2)</sup>	F	—	—	—	—	(F)	F	F	F	F	br. Fl.	
	Lysat	E	—	—	—	—	n	n	(p)	p	p		
	H	—	—	—	—	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	2 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	
	X	—	—	—	—	(H)	H	H	H	HH	HH	HH	
0,75% NaCl	Körperchen	A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	E	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n		
	L	—	—	—	—	—	—	24 <sup>h</sup>	$\frac{1}{2}$ <sup>h</sup>	24 <sup>h</sup>	24 <sup>h</sup>	$\frac{1}{2}$ <sup>h</sup>	
								LL	LL	LL	LL	LL	
	n. 48 Std.	F	—	—	—	—	—	—	—	—	(F)	br. Fl.	
	Lysat	E	—	—	—	—	—	—	—	—	n	p	
	H	—	—	—	—	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	
	X	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	X	(X)	—	HH	

1) Nach 5 Minuten noch nirgends Flockung.

2) Nach 15 Minuten noch nirgends Flockung; nach 48 Stunden nicht stärker.



*Tabelle XIII. Resistenz von Rohrzucker- und NaCl-Blutkörperchen gegen Hypotonie.* Durch Mischen von isotonischen NaCl- (0,9%) und Rohrzuckerlösungen (8%) mit Wasser werden 2 Reihen von Lösungen gleich abgestufter Hypotonie hergestellt und in einem Parallelversuch zu je 5 ccm derselben 0,1 ccm 100% Blutkörperchensuspension (teils 3 Tage in Rohrzuckerlösung gehalten, teils in Kochsalzlösung belassen) gegeben. Endkonzentration der Blutkörperchen somit 2%. Temperatur 18°. Ablesung nach 15 Stunden; frühere Beobachtungen in Klammer gesetzt.

ccm isot. Lösung + ccm Wasser	10 +	8 +	6 +	5 +	4 +	3 +	2 +	1 +	0,5 +	0 +
	0	2	4	5	6	7	8	9	9,5	10
Lyse der Kochsalzblutkörperchen										
in NaCl + Wasser	—	—	L	LL	LL	LL	LL	LL	LL	LL
				(n. 5')						
in Rohrzucker + Wasser	—	—	L	LL	LL	LL	LL	LL	LL	LL
				(n. 9 <sup>h</sup> )	(n. 3 <sup>h</sup> )	(n. 5')				
Lyse der Rohrzuckerblutkörperchen										
in NaCl + Wasser	—	—	—	—	—	L	LL	LL	LL	LL
							(n. 9 <sup>h</sup> )	(n. 3 <sup>h</sup> )	(n. 5')	
in Rohrzucker + Wasser	—	—	—	—	—	—	—	L	LL	LL
									(n. 9 <sup>h</sup> )	

*Tabelle XIV. Einfluß von NaCl auf die Flockung stromatahaltiger und stromatafreier Lysate durch HgCl<sub>2</sub>.*

12% Lysate (NaCl-Gehalt = 0,05%) werden sowohl mit wie ohne Stromata (Berkefield-Filtrat) mit abgestuften Konzentrationen von HgCl<sub>2</sub> versetzt (10 ccm Lysat + 2 ccm HgCl<sub>2</sub>-Lösung). Beide Reihen werden durch Zusatz von 10% NaCl-Lösung nach jeweils 10 Min. Einwirkung stufenweise auf höhere NaCl-Konzentrationen gebracht.

Hg-Gesamtkonz. (Mol im Liter)	1/30	1/90	1/370	1/810	1/2430	1/7290
Lysat mit Stromata						
0,05% NaCl	XX	(X)	(X)	X	X	(X)
0,15% NaCl	XX	XX	XX	—	—	—
0,3% NaCl	XX	XX	XX	—	—	—
0,6% NaCl	XX	XX	XX	—	—	—
0,9% NaCl	XX	XX	XX	—	—	—
1,2% NaCl	XX	X	—	—	—	—
2,4% NaCl	X	—	—	—	—	—
n. 24 Std.	XX	XX	—	—	—	—
Lysat ohne Stromata (Filtrat)						
0,05% NaCl	XX	—	—	—	—	—
0,15% NaCl	XX	XX	XX	(X)	—	—
0,3% NaCl	XX	XX	XX	(X)	—	—
0,6% NaCl	XX	XX	XX	(X)	—	—
0,9% NaCl	XX	XX	XX	(X)	—	—
1,2% NaCl	XX	XX	X	—	—	—
2,4% NaCl	X	—	—	—	—	—
n. 24 Std.	XX	X	—	—	—	—

Tabelle XV. Einfluß von NaOH auf die Viskosität von stromatafreiem Lysat.  
Traubes Viskostagonometer. Temperatur 18°. Durchflußzeit für Wasser 112 Sek.  
Konzentration des Lysats 80%.

Konz. der zugesetzten NaOH (Mol im Liter)	0	0,006	0,02	0,04	0,08	0,16	0,32
Durchflußzeit							
10 Min. nach Mischung	148	147,5	148	152	164,5	185	285
2 Stdn. nach Mischung	148	148	148,5	152	165	224	370
Hämatingehalt							
2 Std. nach Mischung	H—	H—	H—	H—	H—	HH	HH
Flockung nach Neutralisation bei 18°	—	—	—	—	—	X	XX
Flockung durch Alkohol (nicht neutralisiert)	XX	XX	XX	X	—	—	—
Lyse im Parallelversuch mit 80% Blutkörperch. (nach 24 Stunden)	—	—	L	LL	LL	LL	LL

Tabelle XVI. Bindung von H' und OH' durch Lysat.

(Siehe hierzu Kurve im Text.)

Gleiche Mengen von Lysat wurden mit abgestuften Mengen von HCl und NaOH versetzt, die  $p_H$ -Werte der Mischungen elektrometrisch bestimmt. (Elektrode von Michaelis mit stehender Gasblase; Schaltung gegen die gesättigte Kalomelektrode; Standart-Acetat bei 20° : 516,6 Millivolt.) Endkonzentration der Lysate 10%. Temperatur 20°.

Gesamtkonz. der zugesetzten H' bzw. OH'	Versuch vom 7. VII. 1921		Versuch vom 25. VII. 1921		Versuch vom 15. X. 1921		Versuch vom 2. XII. 1921		Häma- tinge- halt z. Z. der $p_H$ - Mess.	Flockungs- verhalten bei Neutralisierung
	M.-V.	= $p_H$	M.-V.	= $p_H$	M.-V.	= $p_H$	M.-V.	= $p_H$		
$4 \cdot 10^{-2}$ H'							359	1,90	} HH	bei 18° XX
$3,2 \cdot 10^{-2}$ H'							374	2,15		
$2,4 \cdot 10^{-2}$ H'							388	2,40		
$2 \cdot 10^{-2}$ H'					400	2,60	406	2,71		
$1,6 \cdot 10^{-2}$ H'							434	3,19		
$1,5 \cdot 10^{-2}$ H'					445	3,34				
$1,2 \cdot 10^{-2}$ H'							461	3,65	} (H)	bei 18° klar
$1 \cdot 10^{-2}$ H'					473	3,86	471	3,82		
$8 \cdot 10^{-3}$ H'	472	3,84					475	3,89	} H—	bei 18° klar, keine erhöhte Fällbar- keit durch Hitze oder Alkohol
$7,5 \cdot 10^{-3}$ H'					479	3,96				
$6 \cdot 10^{-3}$ H'	493	4,20					489	4,13		
$5 \cdot 10^{-3}$ H'			501	4,34	513	4,55				
$4 \cdot 10^{-3}$ H'	529	4,82	534	4,91						
$3 \cdot 10^{-3}$ H'	572	5,54	574	5,60						
$2,5 \cdot 10^{-3}$ H'	594	5,95								
$2 \cdot 10^{-3}$ H'	606	6,16	609	6,20						
$1 \cdot 10^{-3}$ H'	636	6,66								
$5 \cdot 10^{-4}$ H'			649	6,89						

Tabelle XVI (Fortsetzung).

Gesamtkonz. der zugesetzten H <sup>+</sup> bzw. OH <sup>'</sup>	Versuch vom 7. VII. 1921		Versuch vom 25. VII. 1921		Versuch vom 15. X. 1921		Versuch vom 2. XII. 1921		Häma- tinge- halt z. Z. der p <sub>H</sub> - Mess.	Flockungs- verhalten bei Neutralisierung						
	M.-V.	= p <sub>H</sub>	M. V.	= p <sub>H</sub>	M.-V.	= p <sub>H</sub>	M.-V.	= p <sub>H</sub>								
2 · 10 <sup>-5</sup> H <sup>'</sup>	667	7,20	657	7,03	674	7,32	675	7,34	}	bei 18° klar, keine erhöhte Fällbar- keit durch Hitze oder Alkohol						
0			671	7,27							679	7,40				
5 · 10 <sup>-4</sup> OH <sup>'</sup>	694	7,66	685	7,51	}	(H)										
7,5 · 10 <sup>-4</sup> OH <sup>'</sup>			702	7,80			706	7,87								
1 · 10 <sup>-3</sup> OH <sup>'</sup>	721	8,13	759	8,78			}	H								
1,5 · 10 <sup>-3</sup> OH <sup>'</sup>	756	8,73														
2 · 10 <sup>-3</sup> OH <sup>'</sup>	796	9,42	}	HH							}	bei 18° klar, je- doch erhöhte Fäll- barkeit durch Hitze u. Alkohol				
2,5 · 10 <sup>-3</sup> OH <sup>'</sup>	825	9,92											890	11,04		
3 · 10 <sup>-3</sup> OH <sup>'</sup>	849	10,33													852	10,39
4 · 10 <sup>-3</sup> OH <sup>'</sup>	864	10,60											}	}	}	bei 18° XX
5 · 10 <sup>-3</sup> OH <sup>'</sup>	866	10,63							866	10,63						
6 · 10 <sup>-3</sup> OH <sup>'</sup>									876	10,81						
8 · 10 <sup>-3</sup> OH <sup>'</sup>	892	11,08														
1 · 10 <sup>-2</sup> OH <sup>'</sup>	909	11,37			}	}			}	}						
1,5 · 10 <sup>-2</sup> OH <sup>'</sup>	922	11,60					940	11,91								
2 · 10 <sup>-2</sup> OH <sup>'</sup>	938	11,88														
3 · 10 <sup>-3</sup> OH <sup>'</sup>	952	12,11														
4 · 10 <sup>-2</sup> OH <sup>'</sup>	964	12,32														

(Aus der Abteilung für allgem. und vergl. Physiologie an der Universität in Wien  
[Vorstand: *A. Kreidl*].)

## Über das Vorkommen freier Säure im Verdauungstrakt von Oligochaeten.

Von  
**Edmund Nirenstein.**

(Eingegangen am 28. April 1922.)

Zu den auffälligsten Eigentümlichkeiten des Verdauungsvorganges bei Wirbeltieren gehört die Zurückhaltung der aufgenommenen Nahrungskörper in einer Erweiterung des vordersten Darmabschnittes, dem Magen, in dem die Nahrung der Einwirkung eines von der Magenschleimhaut abgesonderten freie Säure enthaltenden Sekretes unterliegt. Mit Ausnahme einiger Teleostierfamilien, die einen Säuresezernierenden Darmabschnitt vermissen lassen, kann bei sämtlichen Wirbeltieren von den Selachiern bis zu den Säugern das Vorkommen freier Säure im Mageninhalt als Regel gelten. Anders bei den Wirbellosen. Magenartige Erweiterungen des vorderen Darmabschnittes teils ektodermaler teils entodermaler Herkunft finden sich wohl in weiter Verbreitung, doch ist bisher kein Fall bekannt worden, in dem der Mageninhalt freie Säure enthalten hätte. Unter diesen Umständen verdient nachfolgende Beobachtung, die sich auf das Vorkommen freier Säure im Verdauungstrakt von Oligochaeten bezieht, ein gewisses Interesse.

Der Organismus, um den es sich handelt, ist der mikroskopisch kleine limikole Oligochät *Chaetogaster diaphanus*. Was den Verdauungsapparat der Gattung *Chaetogaster* auf den ersten Blick von demjenigen anderer Naididen unterscheidet, ist die Gliederung des auf den Oesophagus folgenden Darmabschnittes in zwei annähernd gleich große Säcke, einen vorderen, den Magen, und einen hinteren, den eigentlichen Mitteldarm. Beide Abschnitte sind durch ein kurzes, enges, in seinem Bau mit dem Oesophagus übereinstimmendes Darmstück verbunden. Diese Gliederung des auf den Oesophagus folgenden Darmes in zwei annähernd gleich große Abschnitte erweckt bei flüchtiger Betrachtung den Eindruck, als ob auch der vordere dem Mitteldarm zugehören würde. Der Vergleich mit anderen Naididen läßt jedoch keinen Zweifel darüber, daß der vordere Abschnitt des *Chaetogaster*darmes der als Magen bezeichneten Erweiterung des hinteren Oesophagealabschnittes anderer Oligochaeten bzw. das Verbindungsstück zwischen *Chaetogaster*magen und Mitteldarm dem Endstück des Oesophagus entspricht. Eine weitere Stütze erhält diese Auffassung durch das völlig verschiedene Verhalten der an dem Aufbau beider Darmabschnitte beteiligten Elemente. Die Zellen des Mitteldarmes zeigen das für die Oligochaeten typische Verhalten. Sie sind von zweierlei Art: I. Resorptionstellen mit Flimmerbesatz

und Einschlüssen von körnchenerfüllten Vakuolen und Fetttropfen. 2. Drüsenzellen mit azidophiler Granulation und basophilem Plasma. Im Gegensatz hierzu sind die am Aufbau des Magens beteiligten Zellen von einerlei Art. Je nach dem Kontraktionszustand der Magenwand mehr flach oder mehr kubisch erscheinen sie im lebenden Zustand vollkommen homogen und erweisen sich entweder ganz frei von Einschlüssen oder enthalten ganz vereinzelt in kleinsten Vakuolen eingeschlossene winzige Körnchen. Größere Vakuolen von der Art, wie sie in den Resorptionszellen sich finden, oder Fetttropfen sind in den Magen­zellen niemals anzutreffen. Ebenso fehlen Drüsengranula. Ein besonders charakteristisches Gepräge erhalten die Epithelzellen des Magens durch den Besitz langer starrer borstenartiger Gebilde, die nur im hintersten Bereich des Magens den Charakter von Flimmern annehmen.

Der Verschiedenheit im Aufbau beider Organe entspricht eine weitgehende Differenz im funktionellen Verhalten. Ihren sinnfälligsten Ausdruck findet sie in den Reaktionsverhältnissen beider Abschnitte. Die wasserhelle Durchsichtigkeit der mikroskopisch kleinen Tiere ermöglicht es, die Farbenreaktion geeigneter Indikatoren unmittelbar unter dem Mikroskop zu verfolgen. Im Gegensatz zum Mitteldarm, dessen Kontraktionszustand von der Erfüllung mit festen Nahrungskörpern abhängt, erscheint der Magen von Tieren, die sich unter normalen Bedingungen befinden, einerlei, ob er feste Nahrungskörper enthält oder nicht, stets von einer wasserklaren Flüssigkeit erfüllt, über deren Reaktion folgende einfache Versuche unzweideutigen Aufschluß gaben: Mit Kongorot gefärbtes Filtrierpapier wurde zerfasert und dem Deckglaspräparat, in dem sich die Würmer befanden, zugesetzt. Totes Nahrungsmaterial wird zwar in der Regel von dem räuberisch lebenden Chaetogaster verschmäht, immerhin konnte beobachtet werden, daß rot gefärbte Fasern gelegentlich verschlungen wurden und sofort nach ihrem Eintritt in den Magen eine tiefblaue Farbe annahmen. Die blaue Färbung erhielt sich, solange die Papierfaser im Magen zurückgehalten wurde, um mit dem Eintritt der Faser in den Mitteldarm sofort in Rot umzuschlagen. Noch geeigneter, weil von der Aufnahme geformter Nahrung unabhängig, erwies sich die Prüfung mit Dimethylamidoazobenzol. Wurde ein Tropfen der stark verdünnten Farbstofflösung zum Chaetogasterpräparat hinzugefügt, so nahm die den Magen erfüllende Flüssigkeit sehr bald eine rote Färbung an, die sich rasch vertiefte und schließlich in einen dunkelfuchsinroten Ton überging. Bei intakten Tieren, die sich unter normalen Bedingungen befanden, fiel die Reaktion immer positiv aus. Die Färbung begrenzte sich scharf am Mageneingang und Magenpfortner, beschränkte sich also genau auf den Magen. Der Inhalt der übrigen Darmabschnitte blieb ungefärbt; es sei denn, daß bei einer in Teilung befindlichen Wurm­kette der Magen des hinteren

Tieres schon vollkommen ausgebildet war. In diesem Falle färbte sich dieser häufig ebenfalls rot, selbst wenn der Pharynx des hinteren Tieres noch keine Verbindung mit der Außenwelt gewonnen hatte, sondern noch mit dem Enddarm des Vordertieres kommunizierte.

Die Prüfung mittels der genannten Indikatoren zeigte also, daß die den Magen erfüllende wasserhelle Flüssigkeit *freie Säure* enthält.

Welches ist nun die biologische Bedeutung der Säureabscheidung? Der nächstliegende Gedanke ist der, daß sie nach Art der Magensäure der Wirbeltiere die Wirkung eines pepsinartigen Fermentes ermöglicht. Zur Prüfung der Frage wurde fein verteiltes Karminfibrin verfüttert. Es zeigte sich, daß die Fibrinpartikelchen selbst bei mehrstündiger Verweildauer im Magen daselbst keine Veränderung erfahren und der Magensaft seine klare farblose Beschaffenheit beibehielt. Im Mitteldarm waren selbst relativ ansehnliche Fibrinflocken nach einer halben Stunde völlig zerfallen, wobei der Darminhalt eine diffuse karminrote Färbung annahm. Zu dem gleichen Ergebnis führte die Verfütterung von gefärbtem oder ungefärbtem koagulierten Eiweiß. Im Magen blieb das koagulierte Hühnereiweiß völlig unverändert, um im Darm sehr bald völliger Auflösung anheimzufallen. Das nämliche Verhalten war an aufgenommenen natürlichen Nahrungskörpern festzustellen. Chaetogaster lebt unter natürlichen Bedingungen räuberisch von mikroskopisch kleinen lebhaft beweglichen Organismen wie Infusionen, Rotatorien, Krebslarven usw. Gelangen Beutetiere der genannten Art mit der Umgebung der Mundöffnung des Wurmes in Berührung, so wird eine rasche Schlingbewegung ausgelöst, durch die die Beute in die Rachenhöhle und nach kürzerem oder längerem Aufenthalt im Pharynx durch den Oesophagus in den Magen befördert wird. Im Magen gehen die aufgenommenen Tiere bald zugrunde. Bei Infusorien erfolgt der Tod sofort unter Gerinnung des ganzen Zellkörpers; Nauplien von Cyclops lebten im Magen etwa 30 Sekunden, ältere Larven im Copepodidstadium ca. 5 Minuten; ein Rotator ging nach einer halben Stunde zugrunde. Im übrigen erfahren die aufgenommenen Tiere bei noch so langer Verweildauer im Magen keine Veränderung. Gelangten sie jedoch in den Darm, so setzten sehr bald auf Eiweißverdauung hinweisende Veränderungen ein. Paramácien waren nach halbstündigem Aufenthalt im Darm völlig zerfallen. Von Copepodidformen von Cyclops war nach 24stündigem Aufenthalt im Wurmkörper lediglich die Chitinhülle übrig geblieben. Aus all diesen Befunden geht also hervor, daß dem Magensaft jedwede proteolytische Wirkung abgeht, während im Darm eine energische Eiweißverdauung statthat<sup>1)</sup>. Von einer Wirkung der Chaetogastersäure nach Art einer Verdauungssäure kann also keine Rede sein.

<sup>1)</sup> Nebenbei sei darauf hingewiesen, daß auch Fette und Kohlenhydrate im Magen des Chaetogaster unverändert bleiben. Mit Sudan gefärbte Fettkugeln

Da die Abtötung aufgenommener Organismen den einzig nachweisbaren Effekt der Magensaftwirkung darstellt, so ergab sich die Frage, ob es angeht die deletäre Wirkung des Magensaftes lediglich als Säurewirkung aufzufassen. Selbstverständlich setzt die Beantwortung der Frage eine beiläufige Vorstellung von der Stärke der abgeschiedenen Säure voraus. Es gelang dies in folgender Weise.

Erheblich säureunempfindlicher als die oben erwähnten Indikatoren Kongorot und Dimethylamidoazobenzol ist der Farbstoff Tropäolin 00. Bei einem  $H^+$ -Ionengehalt entsprechend einer  $n/1000$ -Säurelösung erscheint die Tropäolinlösung gelb, bei  $n/100$ -Säure fleischrot, bei  $n/10$ -Säure himbeerrot<sup>2)</sup>. Nach Zusatz von Tropäolin zum Chätogasterpräparat nahm der Mageninhalt regelmäßig eine ausgesprochene himbeerrote Färbung an. Es wurden nun mit dem Indikator versetzte HCl-Lösungen steigender Konzentration in Capillaren von  $1/10$  mm Lichtung (Weite des Chätogastermagens) gefüllt und jene HCl-Konzentration ermittelt, deren Farbenton unter dem Mikroskop mit der Färbung des Magens ausgewachsener lebenskräftiger Chätogasterexemplare übereinstimmte. Es war dies die  $n/20$ -HCl. Eine  $n/20$ -Säure repräsentiert somit die Mindestkonzentration der Säure im Chätogastermagen.

Es fand sich noch ein zweiter Weg, die Stärke der abgeschiedenen Säure abzuschätzen. Unter den Indicatoren auf freie Säure gehört Kongorot zu den empfindlichsten. Dies gilt nur für die Verwendung des Farbstoffes in Lösung oder als Reagenspapier. Anders liegen die Dinge, wenn mit Kongorot gefärbtes Eiweiß als Indicator verwendet wird. Grob koaguliertes Hühnereiweiß wurde mit Kongorot durchgefärbt, genügend ausgewaschen und in HCl-Lösungen steigender Konzentration eingelegt. Während eine wässrige Kongorotlösung schon bei einem Säuregehalt entsprechend einer  $n/10^4$ -Säure einen deutlichen Farbenschlag in Violett erfährt, behielt mit Kongorot gefärbtes Eiweiß — unter dem Mikroskop — selbst in einer  $n/20$ -HCl seine rote Färbung bei. Erst von der genannten Konzentration aufwärts änderte sich mit zunehmendem  $H^+$ -Ionengehalt der Farbenton immer mehr über Rotviolett, Blauviolett in Blau. Andererseits wurde mit Kongorot gefärbtes Eiweiß lebenskräftigen Exemplaren von Chätogaster verfüttert. Nach ihrem zeigten während ihres Aufenthaltes im Magen keine Veränderung, während sie im Darm im Verlauf einiger Stunden teils zu kleinsten unregelmäßige begrenzten Schollen zerfielen, teils ganz verschwanden. In  $60^\circ$  Wasser gequollene, mit Kongorot gefärbte Kartoffel-Stärkeköerner erfuhren im Magen, abgesehen vom Farbensschlag in Blau, keine Änderung. Nach Übertritt der Körner in den Darm, wobei die Farbe sofort in Gelbrot umschlag, begannen die Stärkeköerner zu schrumpfen; nach einigen Stunden waren die meisten Körner verschwunden, von einzelnen hatten sich unscheinbare Reste erhalten.

<sup>2)</sup> Friedenthal, K., Methoden zur Bestimmung der Reaktion tierischer und pflanzlicher Flüssigkeiten und Gewebe. In Abderhaldens Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden I. 1910.

Eintritt in den Magen wurden die Eiweißflocken sofort blauviolett und blieben es bis zu ihrem Übertritt in den Mitteldarm, in dem die Färbung sofort wieder in Rot umschlug. Der Vergleich der im Magen blauviolett gewordenen Flocken mit dem Farbenton von Kongoeiweiß, das in HCl-Lösungen steigender Konzentration eingelegt und unter möglichst gleichen Bedingungen unter dem Mikroskop beobachtet wurde, ergab, daß die vom Magensaft gebläuten Flocken hinsichtlich der Farbennuance mit dem in  $\frac{n}{10}$ -HCl eingelegten Eiweiß übereinstimmten. Der in solcher Weise ermittelte Aziditätsgrad befindet sich also in Einklang mit dem mittels der Tropäolinmethode erhaltenen Werte. Es erscheint bemerkenswert, daß der etwa  $\frac{1}{2}$  mm lange und  $\frac{1}{10}$  mm weite Chätogastermagen einen Magensaft absondert, dessen Acidität von der gleichen Größenordnung ist, wie sie für den Hundemagensaft angegeben wird. Daß eine Säure von dieser Stärke die oben beschriebene deletäre Wirkung auszuüben imstande ist, liegt auf der Hand.

Die Frage, wie es zugehen mag, daß von schwach alkalischer oder neutraler Lösung umspülte Zellen freie Säure in Konzentrationen absondern, die jede lebende Substanz töten, ist noch immer in dichtes Dunkel gehüllt. Die Hoffnung, bei der ausnehmenden Durchsichtigkeit des hier behandelten Untersuchungsobjektes, die die Anwendungen der stärksten Vergrößerungen zuläßt, zumindest der morphologischen Seite des Problems näher zu kommen, erwies sich als trügerisch. Die Ausbeute nach dieser Richtung war überaus dürftig und beschränkte sich lediglich auf die negative Seite des Problems. Als wichtigster Befund verdient hervorgehoben zu werden, daß die freie Säure nur außerhalb der Zellen nachzuweisen ist. An den mit Dimethylamidoazobenzol behandelten Tieren erscheint der ganze den Magen füllende flüssige Inhalt, aber auch nur dieser rot gefärbt. Die Färbung setzt an der Oberfläche des Magenepithels scharf ab. Dabei ist zu beachten, daß Dimethylamidoazobenzol zu den Vitalfarbstoffen gehört, die den Zellkörper diffus färben<sup>1)</sup>. In der Tat nehmen bei längerer Einwirkung des Farbstoffes die meisten Elemente des Wurmkörpers, darunter auch die Epithelzellen des Verdauungstraktes einen diffusen gelben Farbenton an. Das intracelluläre Auftreten freier Säure könnte unter diesen Umständen der Beobachtung nicht entgehen. Noch beweisender nach dieser Richtung erweist sich die Anwendung des Vitalfarbstoffes Neutralrot, der an Säureempfindlichkeit dem Dimethylamidoazobenzol weit überlegen ist. Der in alkalischer Lösung gelbe Farbstoff schlägt schon in einer  $\frac{n}{10}$ -Säure in Rot um. Zusatz einer Spur von Neutralrot zum Chätogasterpräparat bewirkt gleich dem Dimethylamidoazobenzol eine intensive fuchsinrote Färbung des ganzen Mageninhaltes, die sich an der Epithelgrenze scharf

<sup>1)</sup> Nirenstein, E., Über das Wesen der Vitalfärbung. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 179.



absetzt. Bei längerer Einwirkung des Neutralrot macht sich die granulafärbende Wirkung des Farbstoffes geltend. Während nun die verschiedensten Elemente des Wurmkörpers von roten Granulationen dicht erfüllt erscheinen, treten gerade in den Epithelzellen des Magens gefärbte Granula nur äußerst spärlich auf. Die meisten Magenepithelzellen bleiben von ihnen ganz frei. Bei Einwirkung stärkerer Lösungen beobachtet man gelegentlich netzförmig in der Magenwand angeordnete Granulationen. Diese Anordnung entspricht den zwischen den Magen-zellen befindlichen Interzellularlücken, in welche die mit Neutralrot beladenen Granula entleert werden. Anhäufungen ausgestoßener rotgefärbter Granula finden sich in diesen Fällen meist auch im Oesophaguslumen; sie stammen aus den Zellen des Oesophaguswand. Es handelt sich bei diesen Vorgängen um ein bei Zellen mit freien Oberflächen mehrfach festgestelltes Phänomen, das eben darin besteht, daß der Zellkörper die mit Vitalfarbstoffen beladenen Granulationen ausstößt<sup>1)</sup>. Mit dem Vorgang der Säureabscheidung hat die Erscheinung nichts zu tun; vielmehr läßt auch die Neutralrotprobe, der mit Rücksicht auf die große Säureempfindlichkeit und das hohe Permeierungsvermögen des Farbstoffes besondere Bedeutung zukommt, Orte saurer Reaktion innerhalb der Zelle vermissen.

Eine zweite für die Auffassung des Vorganges der Säureabscheidung bemerkenswerte Feststellung ist die, daß die Säure abscheidenden Elemente im lebenden Zustand selbst bei Beobachtung mit den stärksten Systemen vollkommen homogen erscheinen. Auch im Schnittpräparat bietet der Zellkörper der Magenepithelzellen ein vollkommen homogenes Aussehen. Die Säuresekretion erscheint demnach an keine nachweisbare Struktur gebunden. Die einzige morphologisch sich bemerkbar machende Besonderheit, die auf die ausgiebige sekretorische Tätigkeit des Magenepithels hinweist, ist die reiche Vaskularisation des Magens. Ein System ziemlich dicht gestellter, zirkulär verlaufender Blutlakunen, deren Wandung von halbrinnenförmigen Aushöhlungen der entsprechenden Peritoneal- und Magenepithelzellen gebildet wird, umgreift reifenartig den Magen und kommuniziert ventralwärts mit einer an der Ventralseite des Magens gelegenen längs verlaufenden Blutlakune, dorsalwärts mit dem kontraktilen Rückengefäß.

Das Auftreten freier Säure im Verdauungstrakt beschränkt sich nicht auf die Gattung Chätogaster. Auch bei anderen Naididen, spez. bei *Stylaria lacustris*, war, wenn auch nicht so ausgesprochen wie bei Chätogaster, in der als Magen bezeichneten Erweiterung des hinteren Oesophagusabschnittes freie Säure nachweisbar. Der Mangel an einschlägigem Material verhinderte eine eingehendere Verfolgung des Vorganges.

<sup>1)</sup> *Nirenstein, E.*, l. c.

# Die chemische Übertragbarkeit der Nervenreizwirkung.

Von

**R. Brinkman** und **Frl. E. van Dam.**

(Aus dem Physiologischen Institut der Reichsuniversität Groningen.)

(Eingegangen am 17. Mai 1922.)

Die moderne Anschauung über die Ursachen der Muskelkontraktion, möge sie die Lösung des Problems in einer Änderung der Oberflächenspannung an bisher unbekanntem Phasengrenzflächen oder mehr in einer Hydratationsänderung spezifischer Muskelkolloide suchen, verlangt als Folge des Kontraktionsreizes die Produktion oder die Konzentrationsänderung bestimmter chemischer Substanzen. Man könnte im allgemeinen unter diesen Muskelreizstoffen Elektrolyte und Anelektrolyte unterscheiden. Für die quergestreifte Muskulatur scheint wohl in erster Linie die lokalisierte Konzentrationsänderung von  $H^+$ -Ionen (von der Lactacidogenspaltung) oder von Metallionen wichtig zu sein. Oberflächendynamische Erscheinungen werden bei jeder Kontraktionstheorie in Betracht kommen müssen, da die bezügliche Oberflächenenergie nicht nur durch elektrische Beeinflussung, sondern auch durch chemisch-capillaraktive Wirkung erheblich geändert werden kann. Man kann sich vorstellen, daß die Konzentrationsänderung capillaraktiver Substanzen für die Auslösung oder für die Hemmung von Kontraktionserscheinungen wichtig sein muß, wie das auch für die amöboiden Bewegungen gilt.

Die Bedeutung dieser genannten Stoffe ist am besten an der Muskulatur mit vorwiegend sympathischer oder parasympathischer Innervation studiert worden. Die Theorie, daß die Nervenreizung von der Produktion oder (Lokalisationsänderung) reizender Substanzen gefolgt wird, welche für den Effekt der Reizung verantwortlich gemacht werden müssen, ist erst in letzter Zeit von einzelnen Autoren aufgestellt worden. Bekanntlich wollten die systematischen Versuche *Howells*<sup>1)</sup> Beweise dafür beibringen, daß die Folge der Vagusreizung und die Ursache der Vagushemmung des Herzmuskels eine Vergrößerung der Menge diffusibler Kaliumverbindungen im Aurikelgewebe war.

<sup>1)</sup> *Howell*, *Americ. Journ. of physiol.* **15**, 294. 1905; **21**, 55, 63, 1902.

Die Zusammenfassung seiner Arbeit über die Vagusreizung des isolierten durchströmten Säugetierherzens lautet:

1. „Vagusreizung verursachte unter diesen Bedingungen eine Vermehrung im Kaliumgehalt der umlaufenden Zirkulationslösung. Unter den obwaltenden Versuchsbedingungen, nämlich bei wiederholter Umspülung mit einer kleinen Menge der Lösung und bei maximaler Reizung des Nerv. vagus, betrug die Steigerung im Kaliumgehalt sogar 29%. Diese Steigerung beziehen wir auf ein Freiwerden von Kalium aus der Herzsubstanz. Dieses ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die hemmenden Nervimpulse eine Dissoziation einer indiffusiblen Form von Kaliverbindung verursachen. Nach unserer Schätzung kann jeder Reiz (eine halbe bis ganze Minute dauernd) zwischen 0,4 und 0,5 mg Kalium in Freiheit setzen. In der Voraussetzung, daß der Prozeß sich im Aurikelgewebe oder in einem bestimmten Teil der Aurikel abspielt, mußte diese Kaliummenge hinreichen, um das Herz zum Stillstand zu bringen. Die mitgeteilten Ergebnisse teilen wir folglich als Beweismaterial für die Anschauung mit, daß die hemmende Einwirkung des Vagus auf die Herzfunktion durch den Einfluß der diffusiblen Kaliumsalze vermittelt wird, die durch Hemmungsreize ausgelöst werden.“

2. „Reizung des Nerv. vagus erzeugt keine, wenigstens mit der uns zu Gebote stehenden Methode, nachweisbare Veränderung im Calciumgehalt der zirkulierenden Flüssigkeit.“

3. „Reizung des Acceleratornervs bedingt keine Erhöhung des Kaliumgehaltes der Perfusionslösung.“

Die Experimente *Howells* wurden später von *J. C. Hemmeter*<sup>1)</sup> einer sorgfältigen Nachprüfung unterzogen und konnten in keinem Punkte bestätigt werden. Erstens stellte es sich aus von mehreren Analytikern ausgeführten Kaliumbestimmungen heraus, daß der Gehalt vom gereizten und gehemmten Hundshaiherzen an totalen Kaliumverbindungen nicht abgenommen, sondern eher etwas zugenommen hatte.

Zweitens hat *Hemmeter* eine gekreuzte Zirkulation zwischen den Herzen zweier Hundshaie hergestellt, um in dieser Weise auf die Spur einer Vagussubstanz zu kommen. Das Resultat war völlig negativ; aus einem gehemmten Herzen wird durch das durchfließende Blut nichts ausgeschieden, wodurch die Fähigkeit eines zweiten Herzens derselben Spezies verlangsamt oder zum Stillstand gebracht werden kann.

Wir können also jetzt nur sagen, daß das Kalium auf das Herz wie Vagusreizung wirkt, und daß auch die Vagusreizbarkeit durch kleine Mengen K-Ionen erheblich gesteigert wird<sup>2)</sup>; daß aber bei der Vagusreizung tatsächlich Kaliumionen frei werden, ist nicht bewiesen worden.

Ein Hinweis darauf, daß die Lokalisation der Kaliumionen für die Auslösung der Kontraktion wichtig ist, ist auch in den Beobachtungen *Mac Callums*<sup>3)</sup> enthalten. Dieser fand durch Anwendung des Natriumkobaltnitrits als Mikroreagens, daß das Kalium innerhalb der doppelt-

<sup>1)</sup> *Hemmeter*, *Biochem. Zeitschr.* **63**, 118, 140. 1914.

<sup>2)</sup> *Howell* l. c.

) *Mac Callum*, *Ergebn. d. Physiol.* **11**, 631. 1911.

brechenden „sarcous elements“ lokalisiert sei. Untersuchungen an den ruhenden Flügelmuskeln der Kotfliege ergaben, daß das Kalium innerhalb der doppeltbrechenden Teilchen nicht gleichmäßig verteilt, sondern an den Berührungsflächen mit den isotropen Zwischenscheiben angehäuft ist. Im Kontraktionszustande findet man im Gegenteil eine gleichmäßige Verteilung des Kaliums innerhalb der Teilchen. *Mac Callum* hält dies für eine Anweisung dafür, daß die Oberflächenspannung der Teilchen durch eine Veränderung der elektrischen Doppelschicht eine Abnahme an den Seitenwänden erfährt. Das K-Ion wird hierbei eine wichtige Rolle spielen, weil es (nach dem H-Ion) die größte Ionenbeweglichkeit aufweist.

Weitere experimentelle Beweise für diese Theorie stehen noch aus, eine Bestätigung und Erweiterung der histologischen Befunde *Mac Callums* sind die Untersuchungen *Woerdemans*<sup>1)</sup> am elektrischen Organ der Rogge (*Raja punctata*). Man weiß, daß diese Organe modifizierte Muskeln darstellen, deren Kontraktionsfähigkeit allmählich erloschen ist, welche aber die elektrischen Eigenschaften im höheren Maße behalten haben. *Woerdeman* fand eine starke und typische Lokalisation der Kaliumionen in den elektrischen Plättchen des Organs, was mit den elektrischen Funktionen zusammenhängen muß. Ob diese Lokalisation sich beim Nervenreize änderte, ist nicht untersucht worden.

Am weitesten in Beziehung zur biochemischen Funktion der K-Ionen geht *Zondek*<sup>2)</sup> mit seiner Hypothese, welche kurzgefaßt sagt: Vagusreizung = Lokale Konzentrierung von K-Ionen, und Sympathicusreizung = Lokale Konzentrierung von Ca<sup>++</sup>-Ionen. Wenn auch diese Hypothese noch vieles unerklärt läßt und nur unzureichend begründet ist, so findet doch der funktionelle Antagonismus beider Systeme hiermit eine gute Beleuchtung.

Die primäre Erklärung der biochemischen Kaliumwirkung wird von *Loeb* in den elektrochemischen Eigenschaften des K<sup>+</sup>-Ions gesucht<sup>3)</sup>, welches durch seine Stellung im periodischen System durch Atomnummer und „ionic radius“ bedingt sind. Nach *Zwaardemaker* muß aber die Radioaktivität des Atomkernes die Hauptrolle spielen<sup>4)</sup>. Die endgültige Entscheidung wird jetzt wohl noch nicht zu geben sein. Eines möchten wir aber hervorheben, nämlich die Tatsache, daß man den Einfluß einer beliebigen K<sup>+</sup>-Ionenkonzentration nur dann beurteilen kann, wenn die Konzentration der antagonistischen Ionen, im speziellen die der Ca<sup>++</sup>-Ionen gegeben und fixiert ist; man hat also niemals mit der absoluten Konzentration der K<sup>+</sup>-Ionen, sondern immer mit dem Quotienten

<sup>1)</sup> *Woerdeman*, Kon. Akad. van Wetenschappen **29**, 567. 1920.

<sup>2)</sup> *Zondek*, Dtsch. med. Wochenschr. **1921**, Nr. 50.

<sup>3)</sup> *Loeb*, Journ. Gen. Physiol. **3**, 237. 1920.

<sup>4)</sup> *Zwaardemaker*, Zusammenfassung. *Ergebn. d. Physiol.* **19**, 326. 1921.

K : Ca zu rechnen, bei gleichbleibender Konzentration der anderen Ionen.

Bekanntlich sind nun in letzterer Zeit von *Loewi*<sup>1)</sup> wichtige neue Beweise für die Entstehung von Vagus- und Sympathicushormonen als Folge der Nervenreizung und als Ursache der Organleistung beigebracht worden; er formuliert seine Auffassung in dem Satze, „daß die Bildung aktionsauslösender bzw. regulierender Stoffe im direkten Anschluß an die Nervenreizung am Ort des Reizeingriffs (auch) beim Tier die Regel sein dürfte“.

Nach *Loewi* sind diese Substanzen organischer Natur. Sie sind zu vergleichen mit den adrenalin- bzw. muscarin- oder cholinartigen Substanzen. Vom Cholin wissen wir durch die Untersuchungen von *Magnus* und *Le Heux*<sup>2)</sup>, daß es das normale Hormon der Darmbewegungen darstellt. Es zeigte sich, daß im überlebenden Dünndarm Cholin im freien diffusiblen Zustande in solchen Mengen vorhanden ist, daß es durch seine erregende Wirkung auf den *Auerbach*-schen Plexus von wesentlicher Bedeutung für das Zustandekommen der automatischen Darmbewegungen sein muß. Es wurde weiter von *Le Heux* gefunden, daß das Cholin des Darmes als der Angriffspunkt für die Wirkung mehrerer organischer Säuren auf den Darm betrachtet werden muß, da die Wirkung dieser Säuren mit dem Einfluß ihrer Cholinester parallel geht.

Zumal diesen Cholinestern (Acetyler, Brenztraubensäureester) kommt eine große physio-pharmakologische Bedeutung zu, weil ihr Wirkungsgrad die des Cholins vielfach übertrifft. Damit wird auch die eventuelle Existenz eines die Cholinestersynthese begünstigenden Ferments wichtig; der Nachweis von derartigen Fermenten in der Darmwand ist bereits *Le Heux* gelungen.

Ob nun die parasymphatische Erregung Einfluß auf die Produktion des Cholins oder des synthetischen Fermentes ausüben kann, ist unseres Wissens nach noch nicht untersucht worden. Wohl ist durch die neuesten Resultate *Loewis* bekannt geworden, daß der Cholingehalt von Froschmuskeln durch Nervenreizung gesteigert wird<sup>3)</sup>, und ebenso, daß der Cholingehalt des Herzzinhaltes bei Vagusreizung auf das 2- bis 5fache steigt<sup>4)</sup>. Nach *Loewi* ist die Substanz, welche nach längerer Vagospymphaticusreizung in der Herzflüssigkeit mittelst dem funktionellen Versuch nachzuweisen ist, organischer Natur, aber kein Cholin, weil der tatsächliche Effekt des Herzzinhaltes aus der Vagusreizperiode viel

1) *O. Loewi*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **189**, 239. 1921; **193**, 201. 1921. Naturwissensch. **10**, H. 3, S. 52. 1922.

2) *Le Heux*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **173**, 8. 1919; **179**, 177. 1920; **190**, 230, 301. 1921.

3) *E. Geiger* und *O. Loewi*, Biochem. Zeitschr. **127**, 174. 1922.

4) *Loewi*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **193**, 1. c.

intensiver ist, als von der anwesenden CholinKonzentration erwartet werden könnte.

Von *Demoor*<sup>1)</sup> ist schon früher die Theorie aufgestellt worden, daß die Reizung der Chorda tympani die Produktion einer sekretinartigen Substanz bewirkt, welche zusammen mit im Blute sich befindenden Stoffen Anlaß zur Speichelsekretion geben würde. Nach *Demoor* sensibilisiert das Nervenreizprodukt die Drüsenzelle für die aktivierende Wirkung eines im Blute kreisenden Komplexes: „... la sécrétion surgit dans les glandes salivaires comme dans le pancréas grâce à l'activité chimique de la cellule, éveillée par des substances sanguines toujours présentes, mais utilisables seulement sous l'influence des corps spécifiques, élaborés au moment du travail du nerf.“

Die typischen Hormone mit Sympathicuseffekt stehen doch auch genetisch in inniger Beziehung zum Nervengewebe. Die chromaffinen Ganglienzellen sind nach *Gaskell* durch das ganze Tierreich bekannt; die Anwesenheit dieser Zellen fällt mit dem Vorkommen eines contractilen Gefäßsystems zusammen. *Balfour*<sup>2)</sup> und *Kohn*<sup>3)</sup> haben die Entwicklung des Nebennierenmarkes aus sympathischem Nervengewebe festgestellt, so daß an dem neurogenen Ursprung des Adrenalins nicht mehr gezweifelt werden kann. Nach dem bekannten Schema von *Elliot*<sup>4)</sup> muß man zwei Arten von sympathischen Nervenzellen, welche mit den spinalen Zentren in Verbindung stehen, unterscheiden: 1. die sympathischen Ganglienzellen, welche mit ihren postganglionären Fasern mit der glatten Muskulatur usw. in Verbindung stehen, und 2. die Paraganglienzellen (Nebennierenmarkzellen), welche auf Reizung einen Stoff im Blut sezernieren und in dieser Weise die rezeptive Verbindungssubstanz erreichen. Diese zwei Zellarten könnten ursprünglich identisch gewesen sein, und die Adrenalinproduktion die direkte Folge der Sympathicusreizung; jetzt aber haben sich die Paraganglienzellen zur ausschließlichen Adrenalinproduktion differenziert. Die konstante physiologische Notwendigkeit des Adrenalins ist aber noch nicht sicher erwiesen worden. Auch das Hypophysenhormon, insoweit es die glatte Muskulatur reizt, wird von der Pars nervosa dieses Organs gebildet. Und daß schließlich die Produktion dieser Hormone auf Nervenreiz zustande kommt, ist durch die Untersuchungen *Ashers*<sup>5)</sup> festgestellt worden. Die Frage ist nur, ob sich diese Auffassung für alle Nerven-erregungen erweitern läßt.

<sup>1)</sup> *Demoor*, Arch. int. d. Physiol. **13**, 187. 1913.

<sup>2)</sup> *Balfour*, Development of Elasmobranch Fishes. London, Mac Millan 1878.

<sup>3)</sup> *Kohn*, Arch. f. mikroskop. Anat. **62**, 263. 1903.

<sup>4)</sup> *Elliot*, Brain **35**, 306. 1913.

<sup>5)</sup> *Asher*, Zeitschr. f. Biol. **55**, 83. 1910 und zahlreiche andere Arbeiten.

Nachdem wir also auf die vermutliche Bedeutung der Ionenkonzentrationsänderungen und daneben auf die Nervenreizstoffe von zuzusagen pharmakologischer Natur gewiesen haben, möchten wir einige Bemerkungen über den Zusammenhang dieser beiden Gruppen machen.

Was zunächst den Einfluß der Relation  $K : Ca$  auf Vagusreizbarkeit angeht, so wissen wir, daß das Fehlen von  $K^+$ -Ionen sowohl als von  $Ca^{++}$ -Ionen in der Durchströmungsflüssigkeit die Reizbarkeit des Herz- und Magenvagus in reversibler Weise verschwinden macht<sup>1)</sup>. Allerdings sind fast alle Untersuchungen mit einer unphysiologisch großen  $Ca^{++}$ -Ionenkonzentration gemacht worden, weil der  $NaHCO_3$ -Gehalt der *Ringer-Lockeschen* Lösung zu klein ist, und der  $Ca^{++}$  von der Beziehung  $Ca^{++} = k \frac{H^+}{HCO_3^-}$  bedingt wird. Deshalb ist es u. E. noch fraglich, ob bei physiologischer  $Ca^{++}$  eine Kaliumionenkonzentration absolut notwendig ist. Die Anwesenheit einer  $Ca^{++}$  ist unbedingt notwendig, nach *Höber* für die Erhaltung der Kolloidfestigkeit der Nervmuskelverbindung<sup>2)</sup>.

Die Nervenreizbarkeit ist mit Schwankungen der  $K^+$ - und  $Ca^{++}$ -Konzentrationen sehr veränderlich, wie das auch für die willkürliche Muskulatur dargetan wurde; im allgemeinen ist man geneigt anzunehmen, daß die Erregbarkeit mit dem Quotienten  $\frac{K}{Ca}$  zunimmt. Die sympathische Erregbarkeit des Herzens scheint nicht in so hohem Grade wie die des Vagus von Änderungen der  $K^+$ - und  $Ca^{++}$ -Konzentrationen abhängig zu sein; die sympathische Erregbarkeit des Froschherzens bleibt sogar bei Durchströmung mit reiner Kochsalzlösung bestehen<sup>3)</sup>.

Die starke Abhängigkeit der Wirkung von Substanzen wie Cholin, Adrenalin usw. von der  $K^+$ - und  $Ca^{++}$ -Ionenkonzentration ist vielfach untersucht worden. Im allgemeinen ist die Art und Intensität der Wirkung dieser Substanzen nur bei einer bestimmten  $K^+$  und  $Ca^{++}$  eine Konstante, und hierdurch ist die sehr ausführliche Literatur über diese Prozesse nur schwierig zu interpretieren, und ist der Befund voneinander widersprechenden Angaben etwas ganz Gewöhnliches geworden. So wirkt z. B. nach den Untersuchungen von *Kolm* und *Pick*<sup>4)</sup> das Adrenalin nur dann sympathicotrop, wenn eine genügende Menge  $Ca^{++}$ -Ionen vorhanden ist; Erniedrigung der  $Ca^{++}$  bewirkt eine Abnahme resp. ein Verschwinden des sympathischen Einflusses, ver-

<sup>1)</sup> Literatur s. *Brinkman* und *Frl. v. Dam*, Kon. Akad. d. Wetensch. **39**. 18. XII. 1920.

<sup>2)</sup> *Höber*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **166**, 531. 1917.

<sup>3)</sup> *Ten Cate*, Arch. néerland. de physiol. **6**, 269. 1921.

<sup>4)</sup> *Kolm* und *Pick*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **189**, 137. 1921.

bunden mit Erregbarkeitssteigerung des vagalen Endapparates, was dann sogar für Adrenalin empfindlich wird. Und umgekehrt wird die negativ-inotrope Wirkung des Muskarins wieder durch Erhöhung der Calciumkonzentration aufgehoben<sup>1)</sup>.

Schematisch scheint man sich noch am besten an die Vorstellung halten zu können, daß mit Steigerung des Quotienten  $\frac{K^+}{Ca^{++}}$  die parasymphatische Erregbarkeit zunimmt und die sympathische abnimmt, und daß umgekehrt mit Erniedrigung des Verhältnisses der antagonistischen Ionen die parasymphatische Erregbarkeit vermindert und die sympathische vermehrt wird; die tatsächlichen Beweise für diese Auffassung sind aber nicht einwandfrei gegeben. *Loewi* ist der Meinung, daß ein Einfluß von Ionenkonzentrationsänderung bei der Acceleransreizung nicht in Betracht kommt, obwohl er selbst die interessante Beobachtung machte, daß bei Durchströmung mit einer 0,01%  $NaHCO_3$  enthaltenden Ringerlösung die Acceleransreizung die Flüssigkeit saurer macht — Rosolsäure wird schwach gelb ( $p_H \pm 7$ ).

Nach der Formel  $Ca^{++} = k \frac{H^+}{HCO_3^-}$  muß hierdurch die  $Ca^{++}$  der Flüssigkeit erheblich gesteigert sein, und diese Steigerung geht langsam vor sich, proportionell mit der Verringerung der  $NaHCO_3$ -Konzentration. Auch bei der von *Loewi* ausgeführten Veraschung des Herzinhalts sind die Bedingungen nicht gegeben, daß die ursprünglich im Inhalt des gereizten Herzens anwesenden  $H^+$ - und  $HCO_3^-$ -Konzentrationen wieder hergestellt wurden, also auch nicht die betreffende  $[Ca^{++}]$ . Wir würden keineswegs behaupten, daß eine Steigerung des  $Ca^{++}$  bei der Acceleransreizung Ursache der Acceleranswirkung sei, möchten aber nur bemerken, daß die bisherigen Experimente *Loewis* eine derartige Möglichkeit nicht ausschließen.

Die neueren Untersuchungen über die Pathogenese der latenten und manifesten Tetanie sprechen ebenfalls aufs bestimmteste für die Kombination des Ionen- und biologischen Reizstoffeinflusses. Ist es jetzt doch wohl ganz sichergestellt, daß die Erniedrigung der physiologischen  $Ca^{++}$  eine typische Nervenübererregbarkeit verursacht. Wenn man nur daran denkt, daß die Größe der physiologischen  $Ca^{++}$  von dem Quotienten  $\frac{H^+}{HCO_3^-}$  bedingt wird, ist es ganz deutlich, wie eine Alkalosis durch Steigerung der  $NaHCO_3$ -Konzentration oder geringe Verminderung der  $[H^+]$  von einer proportionellen Verringerung der  $[Ca^{++}]$  begleitet sein muß. In unserem Institut gelang es *van Paassen*<sup>2)</sup>, durch

<sup>1)</sup> *Loewi* und *Ishizaka*, Zentralbl. f. Physiol. **19**, 593. 1905.

<sup>2)</sup> *v. Paassen*, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. **65**, 1162. 1921.



intravenöse Infusion von  $\text{NaHCO}_3$  die typische Nervenübererregbarkeit des N. peroneus beim Kaninchen hervorzubringen. Die Überventilationsversuche von *Grant* und *Goldman*<sup>1)</sup> hatten eine klassische Tetanie zur Folge; *Frank* konnte diese Resultate bestätigen. Auch *Freudenberg* und *György*<sup>2)</sup> haben die Bicarbonattetanie untersucht und das Bestehen einer Alkalosis bei manifester Tetanie erwiesen.

Neben dem Einflusse der  $\text{Ca}^{++}$ -Erniedrigung ist aber auch die Dimethylguanidin-Tetanie überzeugend festgestellt worden durch die Untersuchungen von *Koch*, *Noel-Paton*, *E. Frank* und Mitarbeiter usw. Bei der parathyreopriven Tetanie war die Guanidinmenge im Harn und Blut, ebenso wie im Harn spasmophiler Säuglinge bedeutend erhöht. Somit haben wir auch hier wieder die ätiologische Bedeutung von der  $\text{Ca}^{++}$  oder besser des Verhältnisses  $\frac{\text{K}^+}{\text{Ca}^{++}}$  und eines organischen Nervenreizstoffes Hand in Hand gehend<sup>3)</sup>. Das Dimethylguanidin reiht sich wieder in die Gruppe der biogenen Amine ein, wie das Cholin, Neurin, Adrenalin, Histamin usw.<sup>4)</sup>.

Der Zusammenhang von Kreatin mit dem direkt durch  $\text{CO}_2$ -Abspaltung daraus hervorgehenden Dimethylguanidin erscheint uns auch insofern wichtig, daß man in diesem Produkte des Muskeltonusstoffwechsels nicht ein indifferentes Endprodukt, sondern ein aktiv den Tonus beeinflussendes Agens erblicken könnte.

Das Zusammenwirken von Calciumionenkonzentrationserniedrigung und Dimethylguanidinv Vergiftung ist in frappanter Weise bei der parathyreopriven Tetanie zu beobachten, wo nach *Mac Callum* u. a. der Ca-Wert sehr erheblich kleiner wird und Guanidinverbindungen im Harn auftreten<sup>5)</sup>.

Die physico-chemische Erklärung des Zusammenwirkens von Ionenkonzentrationen und organischen Substanzen kam bis jetzt nicht über die allgemeine Analyse von Ionenwirkung auf Zellkolloide hinaus. Die Hypothesen wollen einerseits die betreffenden Zellen durch einen günstigen Ionenquotient für die Wirkung des organischen Stoffes zulässig machen, oder andererseits durch den Einfluß der organischen Substanz die Zellen für bestimmte Ionen sensibilisieren (permeabel machen?).

Sehr wichtig sind in dieser Hinsicht die Untersuchungen von *Emden*<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup> *Grant* und *Goldman*, Journ., Amer., of physiol. 1920, S. 209.

<sup>2)</sup> *Freudenberg* und *György*, Biochem. Zeitschr. **124**, 299. 1921.

<sup>3)</sup> *Koch*, Journ. Biol. Chem. **15**. 1913; *Noel Paton* und *Findlay*, Quart. Journ. Exp. Physiol. **10**, 1916 (mehrere Arbeiten); *E. Frank*, *R. Stern* und *M. Nothmann*, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **24**, 341. 1921.

<sup>4)</sup> Vgl. *Pütter*, Die Naturwissenschaften **8**, 88. 1920.

<sup>5)</sup> *Mac Callum* und *Vogel*, Journ. exp. Med. **18**, 618. 1913.

<sup>6)</sup> *Emden*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **118**, I. 1922.

und seiner Schüler über den Permeabilitätszustand von Muskelfasergrenzschichten, hauptsächlich für den Phosphorsäuredurchtritt. Nach *Embden* steht der Kontraktionseintritt mit einer plötzlichen Steigerung der Permeabilität von beschränkt durchlässigen Grenzschichten in kausalem Zusammenhang. Weiter wurde durch *Lange*<sup>1)</sup> beobachtet, daß das Adrenalin in hohem Maße die Fähigkeit besitzt, die Durchlässigkeit der Muskelfasergrenzschichten für Phosphorsäure und Kaliumionen herabzusetzen.

Grundlegend sind auch die Versuche von *Freudenberg* und *György*<sup>2)</sup>, welche den Zusammenhang von Calcium- und Guadininwirkung analysieren wollen. Diese Forscher heben mit Recht hervor, daß man bei der Untersuchung der Kalkwirkung nicht nur mit der Konzentration der freien  $\text{Ca}^{++}$ , sondern auch mit der des kolloidal-gebundenen Calciums rechnen muß. Daß zwischen diesen beiden Konzentrationen eine Art Gleichgewicht bestehen muß, wird zumal nach den neueren Untersuchungen *Loebs* wohl nicht mehr bezweifelt werden. *Freudenberg* und *György* zeigten nun, daß Stoffe wie Aminosäure, Peptide, Alkylamine, Guanidin, Methylguanidin und Kreatin einen Einfluß auf dieses Gleichgewicht haben, indem sie die kolloide Kalkbindung hemmen. Dadurch würde der Quellungszustand<sup>3)</sup> und auch die Erregbarkeit der Zellkolloide gesteigert werden.

Es wird aus der gegebenen Übersicht erhellen, daß eine Untersuchung nach der eventuellen Existenz von auf Nervenreiz entstehenden chemischen Agentien sowohl auf die Größe der Ionenkonzentrationen, als auf die Produktion organischer Nervenreizstoffe bedacht sein muß.

Vor allem ist aber eine Bestätigung und Erweiterung der Befunde *Loewis* notwendig, und das meinen wir in dieser Arbeit geben zu können. Wir wurden bei der Nachprüfung von der Erwägung geleitet, daß die *Loewis*chen Experimente in dreierlei Weise ergänzt werden könnten, erstens in der Eliminierung etwaiger hydrodynamischer Einflüsse, welche Effekt auf die Herzaktion haben könnten, zweitens Ausbreitung der humoralen Nervenreizübertragung auf weitere Organe, deren vago-sympathische Beeinflussung bekannt ist, und drittens eine mehr physiologische Reizungszeit.

Um den Einfluß der Entleerung und Wiedereinfüllung des Herzens zu vermeiden, wäre es besser eine gekreuzte Zirkulation zwischen zwei Froschherzen herzustellen, wie das *Hemmeter* mit den Hundshaiherzen machte. Wir haben im Anfang unserer Versuche mehrere derartige Experimente gemacht und konnten auf Nervenreizung des

<sup>1)</sup> *Lange*, Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 2, S. 70.

<sup>2)</sup> *Freudenberg* und *György*, Biochem. Zeitschr. **124**, 299. 1921.

ersten Herzens auch immer eine Änderung in der Frequenz und Inotropie des zweiten Herzens beobachten.

Immerhin erschienen uns auch hier die hydrodynamischen Einflüsse nicht genügend eliminiert, und das Herz kein ideales Reagens auf neurotrope Reizstoffe, zumal wenn man mit abwechselnden sympathischen oder parasympathischen Effekten zu rechnen hat. Deshalb wählten wir als reagierendes Organ auf die bei der Herzreizung frei-

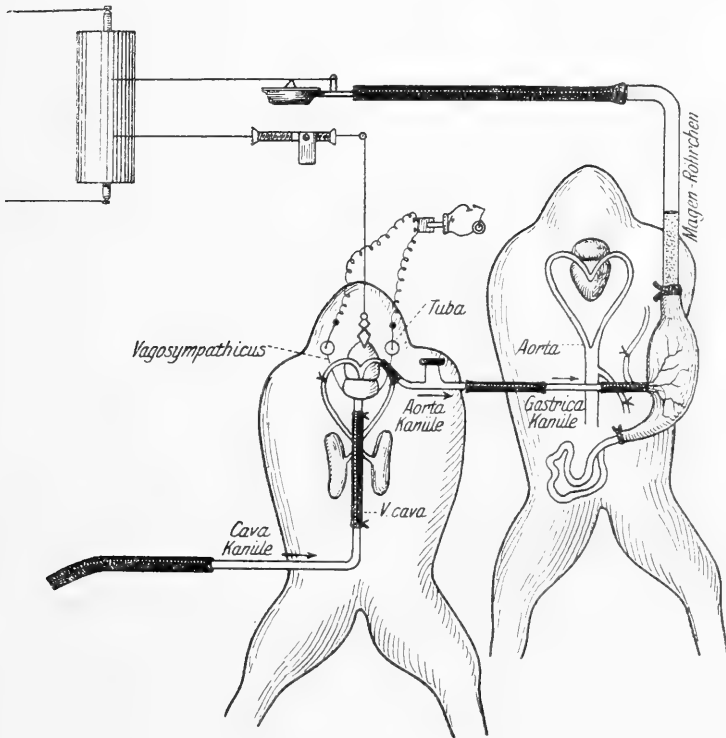


Abb. 1.

kommenden Substanzen den Magen eines zweiten Frosches und machten die Zirkulation so, daß die Durchströmungslösung in die *V. cava* des ersten Frosches eingeführt wurde, durch den linken Aortabogen das Herz verließ und dann durch eine Kanüle direkt in die *A. gastrica* eines zweiten Frosches strömte. Wir reizten dann den Vagosympathicus des ersten Frosches und registrierten die Magenbewegung des Zweiten (Abb. 1).

Die Bewegungen des leeren Froschmagens unter dem Einfluß der Vagus- und Sympathicuserregung sind am ausführlichsten von *Carlson*

und Mitarbeiter studiert worden<sup>1)</sup>. Man muß einen Unterschied machen zwischen dem tonischen Kontraktionszustande und den rhythmischen Magenbewegungen. Doppelseitige Vagotomie mit intakten Splanchnici erhöht die Volumkapazität, Durchtrennung der Splanchnici bei unverletzten Vagi bewirkt Abnahme der Volumkapazität.

Reizung des peripheren Vagusstumpfes gibt immer kräftige Magenkontraktionen, auch das kardiale Ende des Oesophagus kann sich zusammenziehen. Inhibitorische Fasern konnten im Vagosympathicus nicht aufgedeckt werden. Der Effekt der direkten Splanchnicusreizung auf die Spontanbewegungen des Froschmagens ist uns nicht bekannt; Adrenalin aber gibt eine typische Hemmung der Kontraktionen, auch wenn der Vagus zu gleicher Zeit gereizt wird.

Wir werden also von vagalen Reizstoffen eine kontraktionsbefördernde Wirkung, von sympathicotropen Substanzen einen hemmenden Effekt erwarten müssen.

#### *Methodik.*

Für jeden Versuch benutzten wir zwei Frösche, am liebsten männliche, große Esculenten. Der erste Frosch wird dekapitiert, das Rückenmark wird zerstört, eine Glaskanüle in die V. cava zwischen den oberen Nierenpolen eingeführt und bis in die Sinus durchgeschoben. Die Hohlvene wird oberhalb der Lebervene ligiert. Der rechte Aortabogen wird ligiert und in die linke Aorta eine gebeugte Kanüle gebunden und diese mit einem dünnen Gummiröhrchen versehen, zur Verbindung mit der Magenarterienkanüle des zweiten Frosches. Die Durchströmung fängt sofort an, damit keine Gerinnsel in Herz oder Kanülen zurückbleiben. Das Herz bleibt in situ und wird nach der *Engelmannschen* Methode registriert.

Dann wird der zweite Frosch präpariert; auch hier werden Gehirn und Rückenmark zerstört und die vordere Rumpfwand entfernt. Dann wird durch vorsichtiges Zerreißen des Peritoneums die Vereinigungsstelle der Aortenbogen freigelegt und die Coeliaca aufgesucht. Nach Unterbindung der A. intestinalis und A. hepatica wird eine feine gerade Glaskanüle in die Coeliaca gebracht und bis in die A. gastrica durchgeschoben. Bei gelungener Perfusion sieht man bald die Magenvenen mit der Salzlösung gefüllt, welche durch das Herz das Tier wieder verläßt.

Die Bewegungen des Magens wurden durch Luftübertragung registriert. Man muß darauf achten, daß der Magen in situ bleibt und das Mesogastrium nicht gezerrt wird. Das Duodenum wird vorsichtig abgebunden (kleines Loch im Mesenterium) und ein wassergefülltes

<sup>1)</sup> *Carlson* und *Luckhardt*, *Patterson*, zahlreiche Arbeiten in *Americ. Journ. of physiol.* **50**, **53**, **57**.

rechtwinklig gebeugtes Glasrohr im Oesophagus durch die Kardia in den Magen eingeführt. Bei spastischer Kardia führt man vorläufig das Rohr nur bis an die Kardia ein und preßt dann unter leichtem Druck das Wasser aus dem Rohr in den Magen hinein; die Kardia gibt bald nach und im allgemeinen paßt sich der Magentonus dem eingepreßten Wasser sehr gut an, wenn nur die durch die Magenarterie strömende Lösung richtig gewählt ist. Die tonische Anpassung des Magens ist seit den Untersuchungen *Pattersons*<sup>1)</sup> gut bekannt.

Großer Wert ist auf die Entfernung von Schleim und Blut aus dem Magen zu legen. Nicht nur daß der Magen dadurch zuweilen kontrahiert bleibt, aber wenn man nicht sorgfältig, durch Einführen des Glasrohres und Ansaugen des Blutschleimpfropfes den Magen reinigt, ist die Registrierung der Bewegungen unmöglich durch Verstopfung des Magenröhrchens. Ist der Magen leer, so werden  $\pm 2$  ccm Wasser eingelassen und das Röhrchen in die Kardia eingebunden, so daß noch  $\pm 1$  ccm Wasser im Röhrchen bleibt. Die Kontraktionen werden durch Luftübertragung mittels einer Pelotte registriert.

Anfänglich werden also Herz und Magen gesondert durchströmt; durch Verbindung der Aortakanüle des ersten Tieres mit der Gastrickanüle des zweiten werden die Organe nacheinander durchströmt, und kommt der Magen unter den Einfluß der Herzprodukte. Die Vagosympathicusreizung des ersten Frosches geschah nach der Methode *Muskens*<sup>2)</sup>. Hierbei wurden zwei Nägel durch die Tubae eustachii geschlagen und mit dem Induktorium verbunden. Im Anfang unserer Versuche (Beginn März) bekamen wir bei der Vagosympathicusreizung noch deutlichen Herzvaguseffekt, später verschwand die Vaguserregbarkeit fast ganz, und bekamen wir nur Sympathicuseffekt. Durch Froschmangel mußten wir dann weitere Versuche vorläufig abbrechen.

Als Durchströmungsflüssigkeit benutzten wir eine Lösung mit konstanter  $[H^+]$  und  $[Ca^{++}]$ , nl. NaCl 0,55%,  $CaCl_2 \cdot 6 aq.$  0,02%,  $NaHCO_3$  0,2%  $P_H = 8$ , KCl wurde von 0,005 bis 0,02% variiert. Bis jetzt wurde meistens mit KCl 0,005% durchströmt, weil sich dann der K-Effekt und die Vagusreizstoffwirkung am deutlichsten summieren. Die folgenden Kurven geben ein Bild der Resultate.

Abb. 1. Durchströmung von Herz und Magen hintereinander mit NaCl 0,55%,  $NaHCO_3$  0,2%,  $CaCl_2 \cdot 6 aq.$  0,02%,  $P_H = 8$ , KCl 0,005%.

Zeitintervall 5 Sekunden. Bei 2 Anfang der Vagosympathicusreizung, bei 3 Ende der Reizung. Am Herzen beobachtet man erst deutlich Vaguseffekt, was aber nach einigen Sekunden durch Sympathicuswirkung verdeckt wird. Wenn die Vagusherzflüssigkeit den Magen erreicht haben kann, erfolgt eine mächtige Kontraktionswelle

<sup>1)</sup> *Patterson*, Americ. Journ. of physiol. **53**, 293. 1920.

<sup>2)</sup> *Muskens*, Americ. Journ. of physiol.

welche sich über den ganzen Magen fortsetzt, von Pylorus bis Kardia. Mit dem Durchbrechen des Sympathicuseffektes verschwindet die Magenkontraktion.

Wir müssen hierbei noch bemerken, daß die Herzmagendurchströmung bereits 20 Min. im Gange war, und daß während dieser Zeit

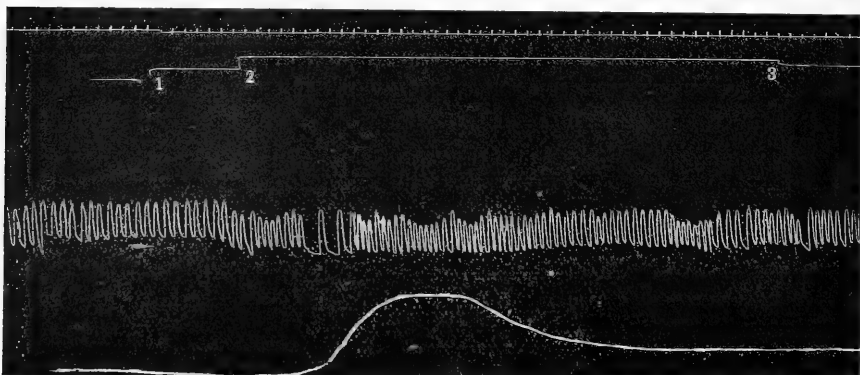


Abb. 1.

der Magen nur winzige Spontankontraktionen aufwies, welche so klein waren, daß wir sie nicht registrieren konnten; die intensive Kontraktion muß also unbedingt im Anschluß an die Herzreizung entstanden sein.

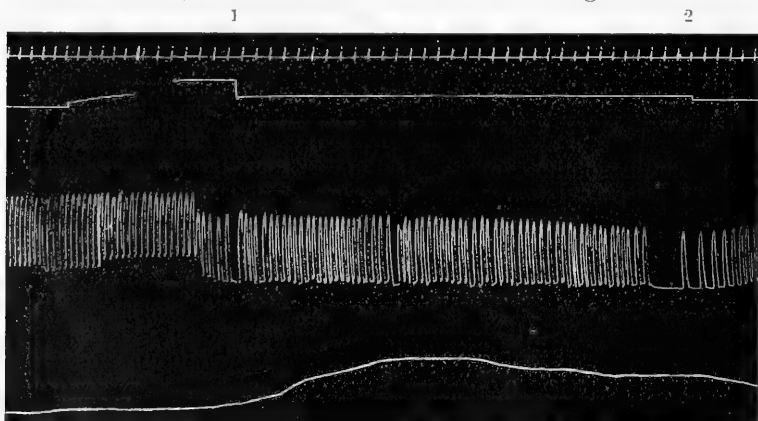


Abb. 2

Abb. 2 gibt dasselbe. Auch hier zeigte der Magen wie gewöhnlich bei der verwendeten Perfusionslösung (KCl 0,005%) nur winzige Spontankontraktionen. Der Effekt der Vagosympathicusreizung ist in der Frequenzabnahme deutlich zu sehen, aber fast „physiologisch“. Bei 1

Anfang der Reizung, bei 2 Ende der Reizung. Der Mageneffekt fängt 15 Sek. nach der Herzreizung an.

Da wir in dieser Weise immer die Wirkung der Vagusreizstoffe auffinden konnten, wenn nur das Herz des ersten Tieres vaguserregbar war, so können wir auf weitere Wiedergabe von Kurven dieser Art vorläufig verzichten. <sup>21</sup>

Abb. 3 und 4 zeigen die Wirkung von bei der Reizung freikommenden Sympathicus-erregungssubstanzen. Vom Anfang April ab könnten wir am Herzen nur noch Sympathicuswirkung erzielen, obwohl der Magen bei elektrischer Reizung noch deutlich vaguserregbar war. Der humoral übertragene Sympathicuseffekt zeigte sich ausnahmslos in einer kompletten Hemmung der Spontankontraktionen. Man kann das also nur deutlich auffinden, wenn der Magen von vornherein kräftige Spontankontraktionen aufweist.

Abb. 3. Durchströmung mit derselben Salzlösung. Der Magen zeigt bereits 10 Min. lang regelmäßige, kräftige Spontankontraktionen. Zeitintervall 5 Sek. Von 1 bis 2 Vagosympathicusreizung mit rein sympathischem Effekt. Die Spontankontraktion kehrt noch einmal zurück, wird dann schwächer und verschwindet ganz. Auf der Kurve ist nicht mehr zu sehen, daß die Spontankontraktionen nach einigen Minuten allmählich zurückkehrten. Diese Zu-

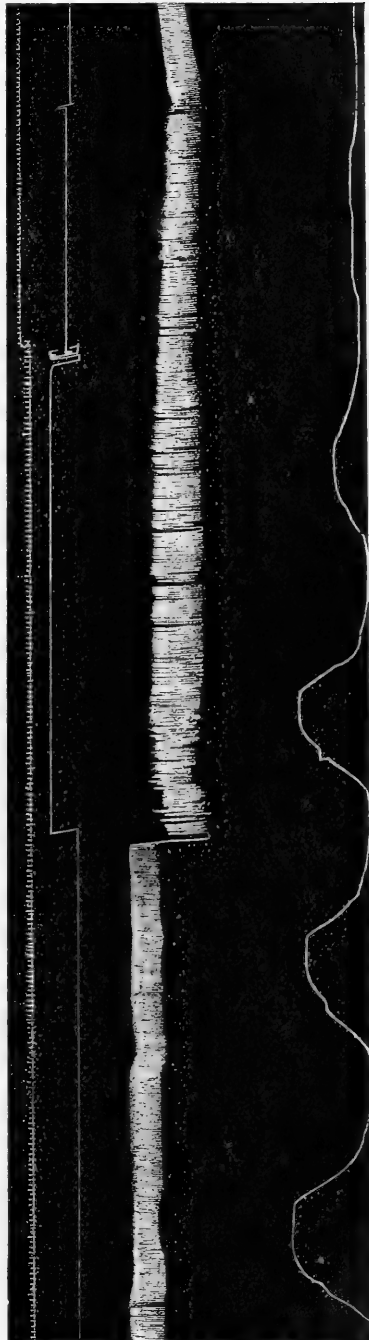


Abb. 3.

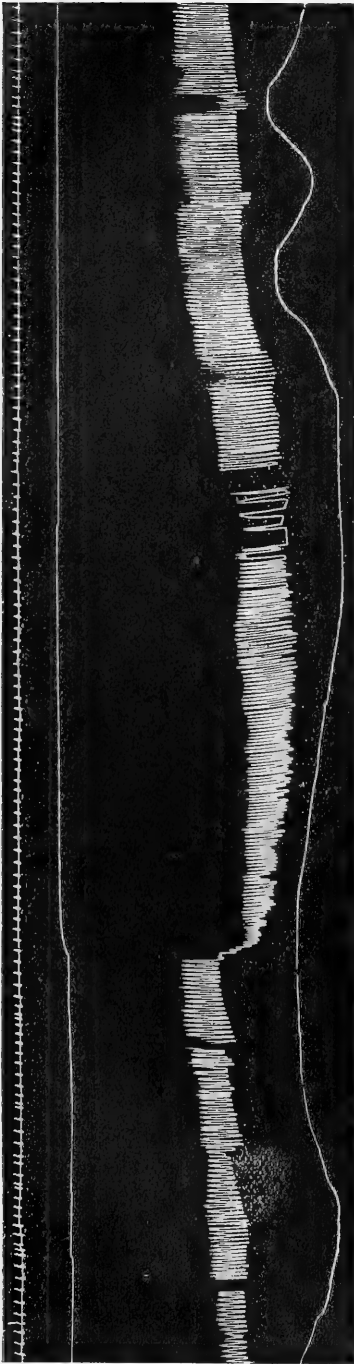


Abb. 4.

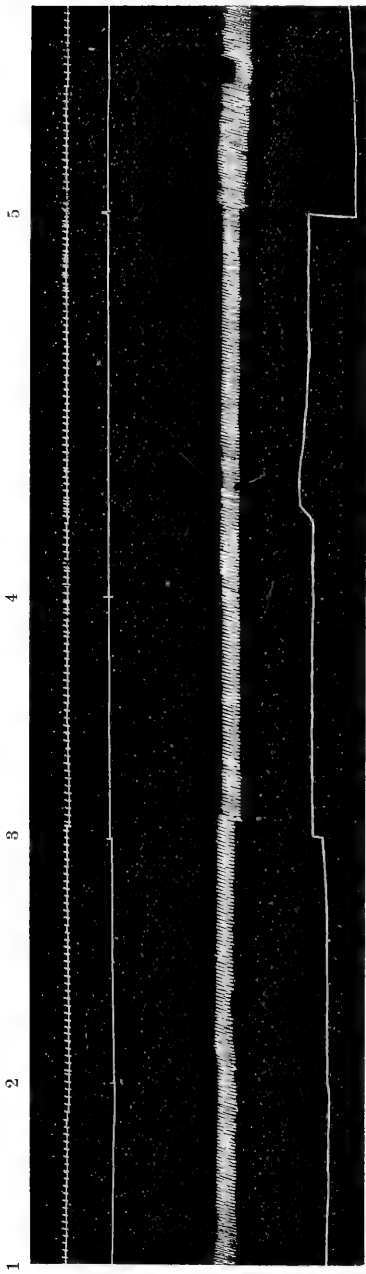
rückkehr der Kontraktionen ist in dem an Abb. 4 wiedergegebenen Experiment zu ersehen.

Abb. 4. Auch hier zeigte der Magen bereits längerer Zeit intensive Spontankontraktionen. Von 1 bis 2 Vagosympathicusreizung, der Herzeffekt ist fast nur sympathisch. Man sieht die Magenmotilität abnehmen und den Kontraktionszustand allmählich verschwinden. Nach Beendigung der Reizung stellen sich die Kontraktionen kräftig und frequent wieder ein.

*Wir glauben in dieser Weise mittels Versuchen, welche die oben aufgestellten Anforderungen berücksichtigen, einen experimentellen Beweis für das Bestehen von humoraler Übertragbarkeit der Nervenwirkung erbracht zu haben.* Etwaige hydrodynamische Einflüsse sind eliminiert, weil die Lösung durch den Magen auch bei Herzverlangsamung mit fast gleicher Geschwindigkeit strömte. Die Zeit der Nervenreizung und der Effekt der Erregung blieben innerhalb physiologischer Grenzen, und die Wirkung der Reizstoffe konnte an einem anderen Organ demonstriert werden, wo die parasympathische oder sympathische Erregung genau zu verfolgen ist. Der funktionelle Antagonismus von vagalen und sympathischen Reizsubstanzen war sehr ausgesprochen.

Die oben beschriebene Versuchsanordnung ermöglicht sowohl eine gesonderte als eine hintereinander geschaltete Durchströmung von Herz und Magen. In dieser Weise konnten





7

6

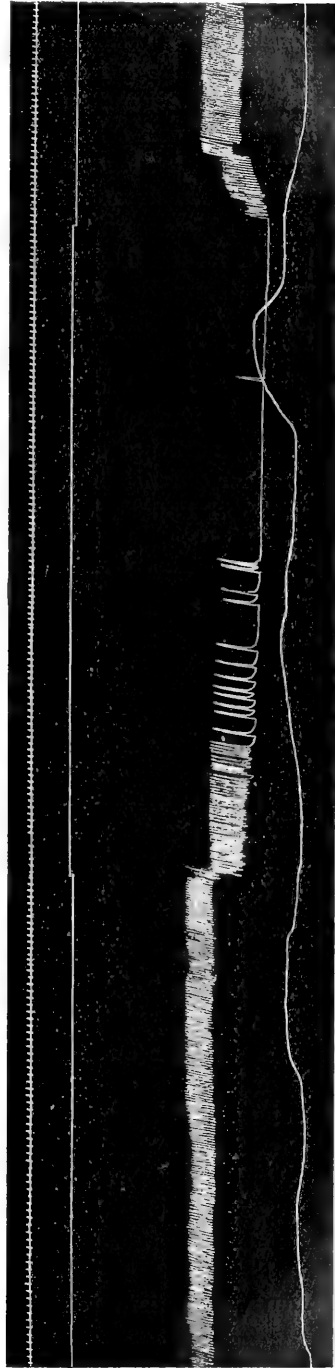


Abb. 5.

wir also den Einfluß von Änderung der Ionenkonzentrationen in der Perfusionslösung an sich, und auch summiert mit dem Effekt der Herznervenreizstoffe auf die Magenbewegungen untersuchen.

Diese Versuche konnten wegen Froschmangels nicht abgeschlossen werden; wir können schon jetzt aber zeigen, wie sich die Einflüsse von Ionenkonzentrationen und Herzsubstanzen kombinieren in ihrem Mageneffekt. Ein zusammenfassendes Bild davon gibt Abb. 5. Von 1 bis 5 wurden Magen und Herz gesondert durchströmt mit Lösungen, welche jedesmal um 0,005% KCl mehr enthielten. Also war bei I die Zusammensetzung der Lösung NaCl 0,55%,  $P_H = 8$ , KCl 0,005%,  $\text{NaHCO}_3$  0,2%,  $\text{CaCl}_2$  6 aq. 0,02%, bei 2 dasselbe mit 0,010% KCl, bei 3 mit 0,015%, und bei 4 mit 0,020% KCl.

Der einzige Effekt dieser KCl-Steigerung war eine Zunahme des Magentonus; Spontanbewegungen fehlten ganz. Bei 5 wurde auf KCl 0,005% zurückgeschaltet, aber jetzt wurden Herz und Magen hintereinander durchströmt.

Unmittelbar danach kam der Tonus auf sein ursprüngliches Niveau zurück und traten rhythmische Spontanbewegungen auf, welche das KCl allein nicht zum Vorschein bringen können. Bei 6—7 Vagosympathicusreizung. Der erst entstehende Sympathicuseffekt wurde bald von einem intensiven Vaguseffekt durchbrochen, und einige Zeit später trat die typische Magenaguskontraktion auf.

Wenn wir uns erinnern, daß auch vom ungereizten Herzen Cholin gebildet wird, so ist die Wirkung des Herzhalts auf die Magenbewegungen nicht unerklärlich. Das Kaliumion allein genügt also nicht für das Zustandekommen der normalen Peristaltik; es war noch ein Herzstoff erforderlich. Dieser Befund stimmt mit der Auffassung über das Cholin als normales Hormon der Darmbewegungen. Die Vagusreizung zeigt, wie sehr die normale humorale Wirkung intensiviert werden kann.

#### *Zusammenfassung.*

Es wurde die Theorie der humoralen Nervenreizübertragung in der Weise untersucht, daß das überlebende Herz eines ersten Frosches und der Magen eines zweiten Frosches hintereinander geschaltet durchströmt wurden.

Reizung des Vagosympathicus des ersten Frosches mit Vagus-effekt wurde von typischer Magenaguskontraktion des zweiten Tieres gefolgt. Und umgekehrt verursachte Reizung mit sympathischem Effekt des Herzens eine charakteristische Hemmung der Magenbewegungen in dem andern Frosche.

Das Bestehen einer humoralen Übertragung von Herznervenreizstoffen wurde hierdurch einwandfrei demonstriert.

# Physiologische und pharmakologische Studien an der Atmung des Kaltblütlers.

Von

Dr. med. **F. Felix Werner** (z. Z. Freiburg i. Br.).

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Mai 1922.)

## 1. Teil.

1. Einleitung (S. 83).
2. Methodik (S. 84).
3. Physiologie der normalen Atembewegung (S. 86).
4. Analyse der pharmakologischen Beeinflussung der Atembewegungen durch Stoffe,
  - A) die primär das Atemzentrum schädigen (S. 86),
  - B) die sekundär das Atemzentrum schädigen (S. 87).
5. Der Atemmechanismus bei Krampfgiften (S. 88).
6. Versuche, das normale Atemzentrum zu erregen und das geschädigte Atemzentrum wiederzubeleben (S. 89).
7. Zusammenfassung (S. 91).

### 1. Einleitung.

Wenn wir beim Frosch rein äußerlich die Atembewegungen beobachten, so fällt uns schon auf den ersten Blick auf, daß wir zwei verschiedene Bewegungsformen an der Kehle unterscheiden können: minder oberflächliche Bewegungen wechseln mit einer tiefergehenden Senkung und Hebung des Mundbodens ab. Die reizvolle Aufgabe, den vom Warmblütler grundverschiedenen Typus der Froschatmung aufzuklären, war das Ziel zahlreicher Forschungsarbeiten<sup>1)</sup>. Den Arbeiten von *Baglioni* und *Gaup* folgten in neuerer Zeit die Arbeiten von *Willem*<sup>2)</sup>, welch letztere mir zum Teil nach Abschluß meiner Arbeit zur Verfügung standen. *Willem* untersuchte im Verlauf der Erklärung der Atmung die verschiedenen Drucke in der Lunge und im Mundbodenraum, unter gleichzeitiger Registrierung der Mundbodenbewegung. Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß bei Schluß der Glottis die Oscillationen der Kehle bei geöffneten Nasenflügeln erfolgen. Diesem ersten Akt, der den Zweck hat, den Austausch der atmosphärischen Luft mit dem Mundboden zu bewirken, folgt unmittelbar die spontane Öffnung der Glottis unter gleichzeitigem Verschuß der Nasenflügel;

<sup>1)</sup> *Baglioni, Asher-Spiro*, Ergebnisse der Physiologie, 11. Jahrg., S. 536.

<sup>2)</sup> *Willem*, Archiv Néerlandais de Physiologie, Tome 3, 3ieme Livraison. 1919.

die Luft in den Lungen tritt unter Senkung des Mundbodens in die Mundbodenhöhle (pulmonale Expiration). Alsdann erfolgt unter Zusammenziehung der Mundbodenhöhle, welche die gemischte Luft in die Lunge bei geöffneter Glottis zurückdrängt, die pulmonale Inspiration. Hierauf Schluß der Glottis, Öffnung der Nasenflügel und Wiederbeginn des Atemspiels. Wir sehen also, daß die Atmung beim normalen Tiere aus zwei koordinierten Vorgängen zusammengesetzt ist. *Baglioni* hat bewiesen, daß die Trennung dieser beiden Akte durch mechanische Einflüsse nicht möglich ist; beim Verschuß der Nasenflügel (durch Wachs) erfolgte die Erneuerung der Luft in der Mundbodenhöhle durch Öffnung des Maules bei verschlossener Atemritze. Es war nun hochinteressant, sich die Aufgabe zu stellen, ob der gesamte Atemmechanismus nun beim Frosch exakt bewiesen werden konnte, und wie derselbe durch physiologische Reize einerseits und durch Pharmaka andererseits beeinflußt werden konnte.

## 2. Methodik.

Es sei vorausgeschickt, daß die Methode, wie sie unten näher beschrieben ist, genau zu befolgen ist, um gute Resultate zu erzielen. Jeder überflüssige Eingriff, jeder Reiz von außen, sei er akustischer<sup>1)</sup>, mechanischer oder optischer Art, ist nach Möglichkeit zu verhindern. Ein Abtrennen der Haut an der Kehle, wie es *Nicolaides*<sup>2)</sup> vorschlägt, ist besser zu vermeiden. Nach der guten Fesselung des Frosches auf dem Froschbrett und Anlage einer Serrefine aus Neusilberdraht durch die Haut in der Mitte der Gegend des *Musc. submaxillaris* wird das mit feuchtem Tuche bedeckte Versuchstier zunächst mindestens 20 Minuten zur Gewöhnung der ihm ungewöhnten Lage in Ruhe gelassen. Zur Registrierung dient ein einfacher Hebel, wie üblich. Zur synchronen Registrierung von Atembewegung und Herztätigkeit kann ein eigens dazu angefertigter Doppelhebel Verwendung finden; siehe Abb. 1. Vorliegende Methodik genügt, um beispielsweise pharmakologische Beeinflussungen der Atmung für Vorlesungszwecke zu demonstrieren. Für die genaue Analyse der Atmung benutzte ich den *Frank'schen* Kymographion mit Spiegelregistrierung<sup>3)</sup>. Das Licht des kleinen auf dem Hebelzeiger befestigten Spiegels (mit einem Radius von 1,5 mm) wurde von einer Nernstlampe, der ein entsprechendes Objektiv vorgeschaltet war, erzeugt. Die Bewegungen wurden bei einer Spaltbreite von 1 mm auf die in Bewegung befindliche mit Film bespannte Trommel registriert. (Entwicklung mit Hydrochinon Rapid-Entwickler.) Das Ergebnis dieser Prüfung erläutert Abb. 2.

<sup>1)</sup> Akustische Reize bewirken beim Frosch das sogenannte „Lauschstadium“ bei sistierten Atembewegungen.

<sup>2)</sup> *Baglioni* a. a. O. S. 543.

<sup>3)</sup> Bezugsquelle: Firma Schmittgall & Cie., Gießen, Nordanlage 9.

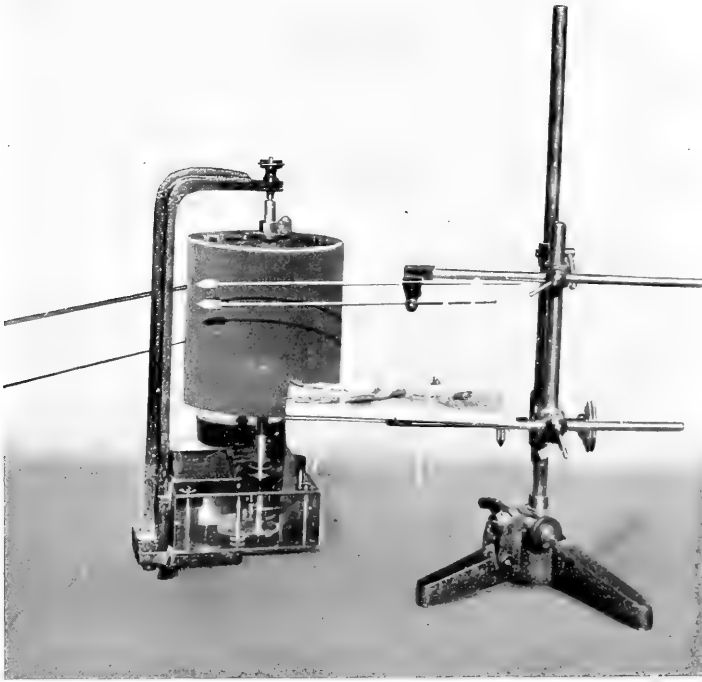


Abb. 1.

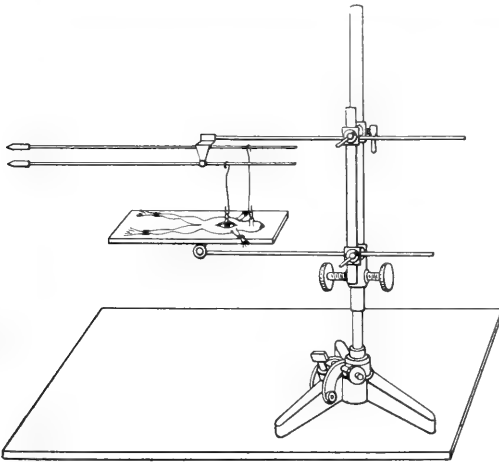


Abb. 1 a.

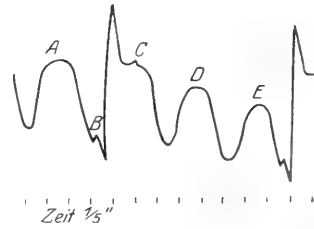


Abb. 2.

### 3. Physiologie der normalen Atembewegung.

In *A* sehen wir die letzte Phase einer Kehledeckelbewegung, der unter Senkung des Mundbodens und unter Öffnung der Glottis bei *B* die pulmonale Expiration folgt. Bei geöffneter Glottis erfolgt unmittelbar die pulmonale Inspiration und bei *C* Schließung der Glottis. Bei *D* und *E* zwei neue Kehledeckelbewegungen, die einen neuen Inspirations- und Expirationsakt einleiten.

### 4. Analyse der pharmakologischen Beeinflussung der Atembewegungen.

#### *A. Durch Stoffe, die primär das Atemzentrum schädigen.*

Bei der Durchführung der Beeinflussung des Atemmechanismus durch Pharmaka können wir schlechtweg die Stoffe einteilen, 1. in solche, die primär das Atemzentrum (Urethan, Chloralhydrat), 2. die sekundär das Atemzentrum schädigen (z. B. Strophantin). Grundsätzlich steht

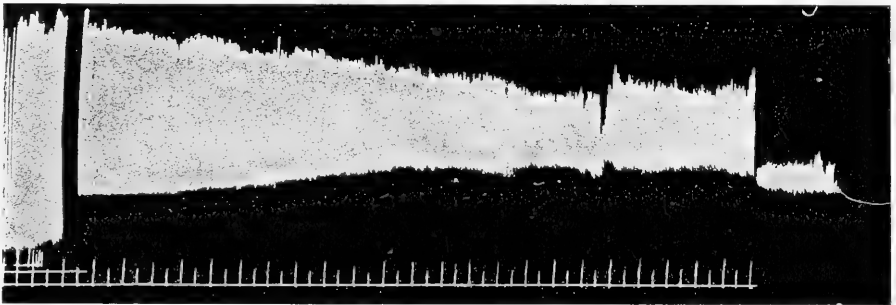


Abb. 3.

hier nicht im Vordergrund die Frage, in welcher Dosis die Mittel Schädigungen hervorrufen, sondern in welcher Weise die einzelnen Phasen der Atmung beeinflusst werden können. Immerhin mußte ein gewisses Maß auch für die Zeit und Menge der Wirkung anberaumt werden. Als Zeitmaß setze ich eine Stunde fest und bezeichne die Dosis, die innerhalb dieser Zeit eine Atemzentrumslähmung bewirkt, als Dosis Apnoeae totalis minima (D. A. t. m.). Als Versuchstiere wurden *Rana temporaria* verwendet, in einigen Fällen frischgefangene Exemplare von *Bufo vulgaris*<sup>1)</sup>. Bei der Analyse der Wirkung des Urethans, dessen D. A. t. m. 0,0037 g pro g Frosch beträgt, ist bei langsamem Gang des Kymographions (Abb. 3) zu ersehen, daß die Amplituden deutlichen Abstieg aufweisen. Bei den nach obiger Methode aufgenommenen Filmkurven (Abb. 4) ergibt sich, daß der letzte Expirations- und Inspirationsakt 26 Minuten nach der Injektion der D. A. t. m. erfolgt.

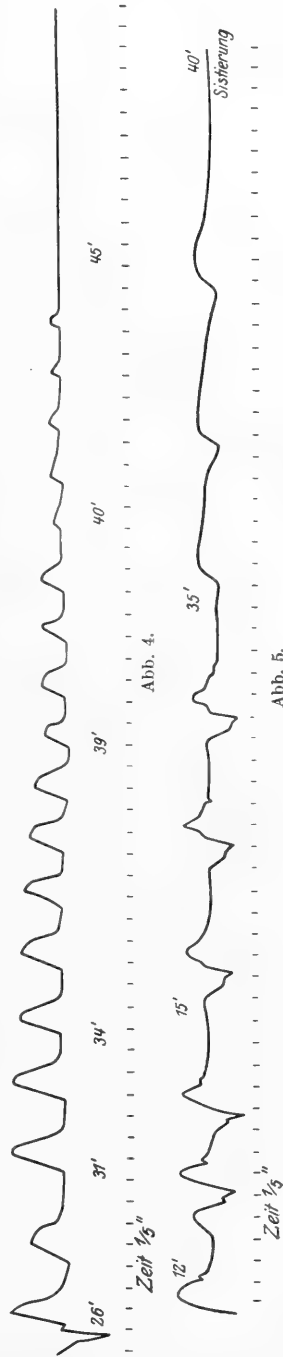
<sup>1)</sup> Die Injektionen erfolgten in den Oberschenkellymphsack.

Nach dieser Zeit sehen wir, daß nur noch immer schwächer werdende Kehledeckelbewegungen der vollständigen Atemsistierung vorausgehen. Es ergibt sich also hieraus, daß die Koordination des Atemmechanismus durch pharmakol. Beeinflussung sehr wohl zu trennen ist, wie wir weiter unten noch näher sehen werden.

Bei Chloralhydrat (Abb. 5), dessen D. A. t. m. = 0.0003 g pro g Frosch beträgt, sehen wir nach 12 Minuten post injektionem ein vorübergehendes Aussetzen, das wir kurz als intermittierende Apnoe bezeichnen wollen. Es fällt auf, daß im Gegensatz zu Urethan die Oscillationen in diesem Stadium vollständig fehlen, und die verlangsamte Atmung jeweils expiratorische und inspiratorische Phasen aufweist. Daß die Schädigung eines wichtigen Bestandteiles der Atmung schwere Folgen hat und in welcher Weise diese zustandekommen, ergibt sich von selbst.

*B. Die sekundär das Atemzentrum schädigen.*

Von Stoffen, die erst einen sekundären (Abb. 6) Einfluß auf das Atemzentrum ausüben, seien erwähnt die Digitaliskörper. Als Beispiel wurde Strophanthin Böhringer gewählt (Dosis in diesem Falle 0,1 mg bei 23 g schwerem Tiere). Es wurde gleichzeitig Atmung (i. d. Abbildung oben) und Herztätigkeit (unten) registriert. Charakteristisch ist der Zeitpunkt einer Schädigung der Atmung, die sich auch hier durch intermittierende Apnoeen kundgibt. Erst bei einer deutlichen systolischen Wirkung des Ventrikels sehen wir eine Beeinflussung der Atemtätigkeit. Nach vollständigem Tonus des Ventrikels (die kleinen Bewegungen sind auf die Atrien zu beziehen) nimmt die Atmung ihren Fortgang und kann dieselben längere Zeit überdauern. Auch die Atrientätigkeit erlischt vor der Beendigung der Atmung.



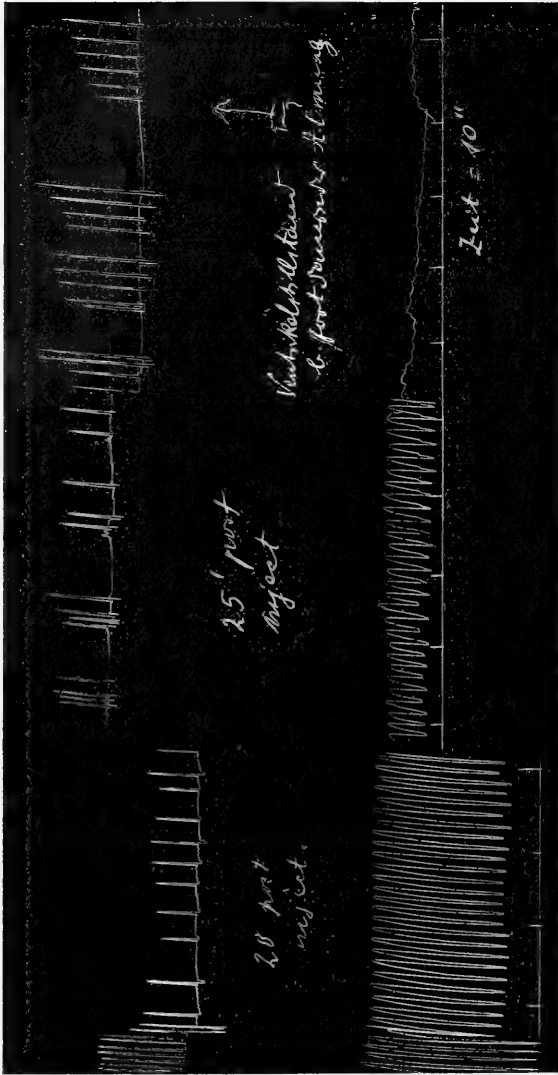


Abb. 6.

### 5. Der Atemmechanismus bei Krampfgiften.

Die Analyse der Atmung bei Krampfgiften, von denen ich das Strychnin auswählte gibt uns wertvolle Aufschlüsse über den Verlauf der Atemkurve beim Tetanus. Es ist bekannt, daß die Frösche nach einer Injektion des oben erwähnten Stoffes, in diesem Falle 1/10 mg häufig einen Schrei ausstoßen. Bei Registrieren des Vorganges sehen wir in Abb. 7, daß eine forcierte Expiration (Schrei) den Tetanus einleitet. Der letztere findet bei kollabierten Lungen statt. Lassen wir die Reize



in mäßig rascher Aufeinanderfolge derart wirken, daß die Refraktärphase nicht beeinflusst wird, so ist das Versuchstier unfähig, den kurzen Intervall zu Oscillationen zu verwenden. Vielmehr hat es das Bestreben, durch möglichst zahlreiche inspiratorische Phasen die Lungen mit Luft zu füllen. An keinem Beispiele läßt sich in so prägnanter Form dieser mit einer Aufpumpung vergleichbare Vorgang rein äußerlich am Versuchstier zeigen, an der Zunahme des Lungen-Volumens. Als charakteristisch sei die Tatsache hervorgehoben, daß ganz selbstverständlich während der Dauer des Tetanus jede Atemtätigkeit sistiert.

Erwähnen möchte ich, daß die Herztätigkeit beim Strychninkampf bei *Rana* in einer ganz anderen Art verläuft, als bei *Bufo*. Ich komme hierauf in einer anderen Arbeit näher zurück.

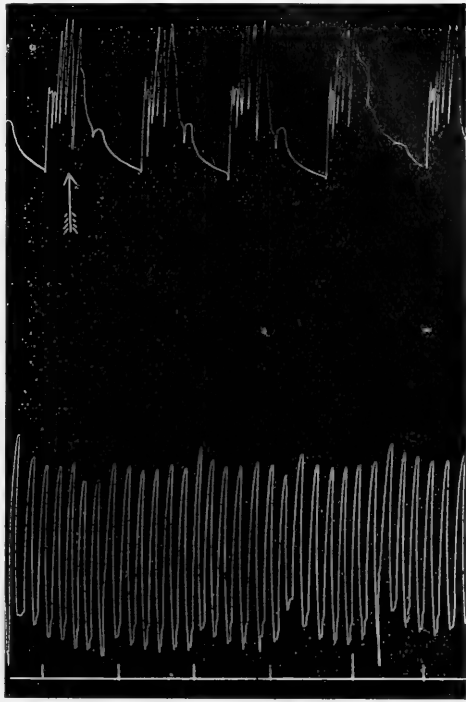


Abb. 7.

## 6. Versuche das normale Atemzentrum zu erregen und das geschädigte Atemzentrum wiederzubeleben.

Es ist ein Fundamentalsatz der pathologischen Physiologie, daß die Beeinflussung des Atemzentrums jeweils von dem Zustande, in dem sich dasselbe befindet, abhängig ist. Es ist bekannt, daß auch schwache autochthone Reize einerseits und reflektorische Reize andererseits die Tätigkeit des A. C. beeinflussen können. Wenn es erst gelingt, Schädigungen, die im Organismus ihre Entstehungsursachen haben, im Tierversuch genau nachzuahmen, werden wir neue Fortschritte in der Erkenntnis der „Erregungsmittel“ gewinnen. Im Hinblick auf die Untersuchungen am Atemzentrum von Warmblütlern sei schon jetzt erwähnt, daß es Mittel geben kann, die das geschädigte A. C. vorübergehend beleben, während sie das intakte A. C. weder günstig noch ungünstig beeinflussen. Trotzdem bleibt nie die Untersuchung auf das normale Atemzentrum überflüssig. In vorliegendem Falle wurde der Atropinschwefelsäure-

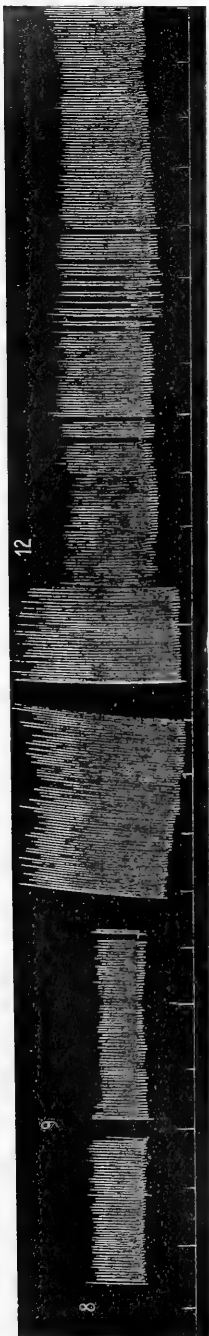


Abb. 8.



Abb. 9.

ester<sup>1)</sup> auf seine Wirkung auf das A. C. von *Rana temporaria*<sup>2)</sup> versucht.

Es ist klar, daß der Injektionsreiz (die Injektion wurde, wie bei allen Versuchen in den Oberschenkellymphsack verabfolgt) jeweils berücksichtigt wurde. In einzelnen Phasen wurde die Wirkung des Atropinschwefelsäureesters 0,1 mg in 1 ccm Ringer geprüft. Es wurde (siehe Abb. 8) die Atmung normal bei a) nach 9', bei c) nach 11', bei d) nach 15', bei e) nach 30' post inj. registriert. Es ergibt sich eine starke ziemlich lang anhaltende Wirkung in erregendem Sinne auf das A. C. Zur Prüfung des Atropinschwefelsäureesters auf das geschädigte A. C. wurde, wie folgt, verfahren: Der mit der

Maximaldosis Chloralhydrat injizierte *Rana temporaria* erhielt beim Auftreten der ersten Schädigungen (siehe Abb. 9 c) 0,1 mg Atropinschwefelsäureester. Es zeigte sich im Verlauf der Untersuchung einer Wiedererholung der Atmung und es trat der bestimmt zu erwartende Atemstillstand nach 60' nicht ein. Die Beobachtung erstreckt sich bei vielen Versuchen auf mehrere Stunden.

Ebenso zeigten Frösche, die eine halbe Stunde vor der Chlo-

<sup>1)</sup> Ich verdanke größere Versuchsmengen der Firma chemische Werke, Grenzach.

<sup>2)</sup> P. Trendelenburg, Arch. f. experimentelle Pathologie u. Pharmakol. **73**, 118. 1913.

ralinjektion mit Atropinschwefelsäureester vorbehandelt waren, selbst unter Überschreitung der Dosis keine typische Chloralwirkung.

### 7. Zusammenfassung.

1. Der physiologische Vorgang der Atmung von *Rana temporaria* konnte mittels der angegebenen Spiegelmethode am *Frank'schen* Kymographion photographisch registriert werden.

2. Die Koordination der Atembewegungen konnte durch Einverleibung verschiedener Pharmaka getrennt werden.

3. Bei Urethan konnte mit der photographischen Registrierung die Einstellung der expiratorischen und inspiratorischen Phasen unter Erhaltung der Oscillationen (Kehldeckelbewegungen) gezeigt werden.

4. Chloralhydrat wies mit der gleichen Methode untersucht Einstellung der Oscillationen, Erhaltung der Exspirations- und Inspirationsphasen auf. Dieses Stadium wird als intermittierende Apnoe bezeichnet.

5. Bei Strophantin wird die Atmung erst sekundär geschädigt. Der Zeitpunkt dieser Schädigung fällt meist zusammen mit der ersten Tonuszunahme des Ventrikels.

6. Bezüglich der Atmung bei Strychnintetanus muß auf die kurzgefaßte Abhandlung verwiesen werden.

7. Atropinschwefelsäureester hat auf das normale und geschädigte Atemzentrum eine erregende Wirkung.

# Untersuchungen über das Aussalzen der Polysaccharide und über den Verlauf der Säurehydrolyse der Stärke.

Von  
cand. med. **Hans Perger.**

(Aus dem physiologischen Institut der Westf. Wilhelmsuniversität zu Münster i. W.  
[Direktor: Prof. Dr. R. Rosemann].)

(Eingegangen am 15. Mai 1922.)

Seit *Kirchhoff*<sup>1)</sup> im Jahre 1811 und 1814 die Spaltung der Stärke durch Kochen mit Säuren und durch die Wirkung der Diastase entdeckte, haben zahlreiche Untersucher sich bemüht, den Verlauf des Spaltungsvorganges und die Art der dabei entstehenden Zwischenprodukte aufzuklären, ohne daß bisher Übereinstimmung in diesen Fragen erzielt worden ist. Nach *Payen*<sup>2)</sup> wird die Stärke zuerst in Dextrin und dann dieses in Glucose umgewandelt, nach *Musculus*<sup>3)</sup> entstehen Dextrin und Glucose gleichzeitig aus der Stärke, indem von vornherein Maltose oder Glucose von dem Stärkemolekül abgespalten wird und Dextrin zurückbleibt. Ebensowenig besteht Übereinstimmung über die Natur der unter der Bezeichnung der Dextrine zusammengefaßten Zwischenprodukte zwischen dem ursprünglichen Stärkemolekül und dem Disaccharid. Diese große Gruppe in einzelne chemisch wohl charakterisierte Körper zu zerlegen ist auf die mannigfachste Weise versucht worden; die Resultate waren aber bisher nicht befriedigend. Da es sich hierbei zum Teil jedenfalls um hochmolekulare Körper handelt, lag es nahe, die Methode des Aussalzens durch Neutralsalze, die in der Erforschung der Eiweißkörper so wertvolle Ergebnisse gezeitigt hatte, hierauf anzuwenden und zu versuchen, ob es nicht gelingt, durch fraktioniertes Aussalzen mit geeigneten Salzen die verschiedenen Abbauprodukte voneinander zu trennen.

<sup>1)</sup> Journal de pharmacie **74**, 199; Schweiggers Journal **14**, 389 (nach v. Lippmann, Chemie der Zuckerarten, Braunschweig 1904).

<sup>2)</sup> *Payen*, Dextrine et glucose produites sous l'influence des acides sulfurique ou chlorhydrique. Comptes rendus des séances de l'acad. des sciences **53**, 1217. 1861.

<sup>3)</sup> *Musculus*, Nouvelle note sur la transformation de l'amidon en dextrine et glucose. Comptes rendus des séances de l'acad. des sciences **54**, 194. 1862. — *Musculus* und *Gruber*, Sur l'amidon. Bulletin de la société chimique (2) **30**, 54. 1878.

Nur die ältere Literatur brachte darüber einige wenige Angaben von *Nasse*<sup>1)</sup>, *Pohl*<sup>2)</sup> und *Young*<sup>3)</sup>. Von einer fraktionierten Aussalzung der Kohlenhydrate haben *Baur* und *Polenske*<sup>4)</sup> zum Zwecke praktischer Untersuchungen Gebrauch gemacht, indem sie bei Untersuchungen von Wurst nach dem *Mayrhofer-Polenskischen* Aufschließungsverfahren Stärke und Glykogen durch  $\frac{2}{3}$ -Sättigung mit Ammonsulfat zunächst zusammen ausfällten und dann das schwerer fällbare Glykogen durch Nachwaschen des Filters mit halbgesättigter Salzlösung wieder in Lösung brachten.

Nach diesen Ergebnissen erschien es Erfolg versprechend, die Methode der fraktionierten Aussalzung zum Studium der kolloiden Kohlenhydrate und der fortschreitenden Säurehydrolyse der Stärke weiter auszubauen. Die Anregung zu dieser Untersuchung gab mir Herr Prof. Dr. *Rosemann*, in dessen Institut ich die Arbeit ausführen durfte. Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer für die zahlreichen Anregungen und Hinweise, mit denen er mich stetig unterstützte, sowie für das rege Interesse, das er dem Fortschreiten meiner Arbeit zuwandte, meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Der Arbeit lag folgender Gedanke zugrunde: Ein Stärkekleister sollte durch Kochen mit Salzsäure hydrolysiert und die Hydrolyse vor Beendigung des Verzuckerungsprozesses unterbrochen werden. Durch Zusatz verschiedener Salze in mannigfaltigen Konzentrationen sollte versucht werden, für die bis dahin auftretenden Spaltprodukte gewisse „Fällungsgrenzen“ im Sinne *Hofmeisters* festzulegen, der diese für „ebenso charakteristisch für den Eiweißstoff, wie etwa den Löslichkeitsgrad für einen kristallinen Körper“ hielt. Schließlich sollte der Niederschlag und das Filtrat vollständig in Glucose übergeführt und dann durch die polarimetrische Untersuchung festgestellt werden, wieviel von der ursprünglichen Stärke in den Niederschlag, wieviel in das Filtrat übergegangen war.

Für sämtliche Versuche wurde das gleiche Stärkepräparat benutzt, das bekannte Maispräparat *Gustin* der Nahrungsmittelfabrik Dr. A. Oetker, Bielefeld. Der in der üblichen Weise hergestellte Stärkekleister zeigte nach dem Abkühlen meist zahlreiche Unregelmäßigkeiten in Gestalt von gallertigen Klumpen, zähen, unlöslichen Häuten und kleinen Flocken. Die größeren Bestandteile konnten mittels Filtern durch ein Porzellansieb aus dem Kleister entfernt werden. Um aber eine möglichst gleichmäßige Lösung für die Untersuchung zur Verfügung zu haben,

1) *Nasse*, Über das Aussalzen der Eiweißkörper und anderer kolloider Substanzen. *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **41**, 504. 1887.

2) *Pohl*, Über die Fällbarkeit kolloider Kohlenhydrate durch Salze. *Zeitschr. f. physiol. Chemie*, **14**, 151. 1890.

3) *Young*, The Precipitation of Carbohydrates by Neutral Salts. *Journ. of Physiol.* **21**, XVI. 1897.

4) *Baur* und *Polenske*, Über ein Verfahren zur Trennung von Stärke und Glykogen. *Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt* **24**, 576. 1906.

filtrierte ich später den noch warmen Kleister mittels Wasserstrahlpumpe durch einen mit etwas Glaswolle ausgelegten feinporigen Platinkonus. Durch die Verminderung des Druckes in der das Filtrat aufnehmenden Filterflasche kam dieses dort wiederholt zu leichtem Aufkochen, was die Gleichförmigkeit des Kleisters noch zu erhöhen schien. Schließlich wurde die Lösung in einem großen mit einem doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossenen Kolben durch Kochen sterilisiert. Durch die eine Öffnung des Stopfens führte ein unten mit einem Gummiansatz und einer Quetschkammer versehenes Heberrohr, durch das jeweils die gewünschte Menge Stärkelösung entnommen werden konnte. Das erforderliche Nachströmen von Luft in den Kolben wurde durch die andere Öffnung ermöglicht; die dort eingesetzte, oben bauchige Glasröhre war mit einem starken Wappfropf versehen, um das Eindringen von Bakterien zu verhindern.

Qualitative Voruntersuchungen über die Fällbarkeit der Stärke eines solchen Kleisters durch verschiedene Salze bestätigten im allgemeinen die Angaben *Youngs* (vgl. S. 93). Setzte ich zu einer bestimmten Menge eines etwa 1 proz. Kleisters eine bestimmte Menge gesättigter Salzlösung Ammonsulfat bzw. Magnesiumsulfat, so ließ sich bei Anwendung beider Salze eine Verstärkung der Fällung mit zunehmender Salzkonzentration erkennen. Bei der Anwendung von Magnesiumsulfat ist in  $\frac{2}{3}$ -Sättigung die Ausfällung vollkommen. Der Vergleich der Wirkung des Magnesiumsulfates mit der des Ammonsulfates zeigt deutlich die stärkere Wirkung des ersteren (vgl. *Nasse*, a. a. O.). Nach dem Vorbilde *Youngs* wurden dann auch mit Natriumsulfat, Natriumacetat und Zinksulfat Versuche angestellt. Doch hatten diese keine befriedigenden Resultate, was um so beachtenswerter ist, als Zinksulfat beim Aussalzen der Eiweißkörper neben Ammonsulfat an erster Stelle steht.

Bei meinen quantitativen Versuchen verfuhr ich zur Bestimmung des Stärkegehaltes nach der alten *Sachsse*'schen<sup>1)</sup> Methode, indem die Stärke durch dreistündiges Erhitzen in 2 proz. Salzsäurekonzentration in kochendem Wasserbade am Rückflußkühler in Glucose übergeführt und als solche polarimetrisch bestimmt wurde. Die polarimetrische Bestimmung wurde bei Natriumlicht mit einem dreiteiligen Landolt-Lippichschen Halbschattenapparat von *Schmidt* und *Hänsch* ausgeführt, dessen Kreisteilung Ablesungen bis auf  $0,01^\circ$  gestattete. Die Länge des Polarisationsrohres betrug 200 mm. Die angegebenen Werte sind immer das Mittel aus 10 Ablesungen.

Ich fand bei meinen Kontrollversuchen, daß zur vollständigen Überführung von Stärke in Glucose eine dreistündige Hydrolyse erforderlich war, daß aber eine noch länger fortgesetzte Hydrolyse die Drehung der Lösung nicht mehr wesentlich veränderte.

Durch die dreistündige Hydrolyse einer genau abgewogenen Menge lufttrockener Stärke (14,1% Wasser) konnte festgestellt werden, daß die Gesamtmenge der Stärke in Glucose verwandelt war. Diese Feststellung stimmt mit den Angaben *Sachsse*'s überein, der bei Mais- und Marantastärke eine Aufspaltung bis zu 100% beobachtete, wogegen er auch bei beliebig lange fortgesetzter Hydrolyse von Reis- und Weizenstärke stets Reste höherer Zucker feststellte. Die Verwendung von Maisstärke für meine Versuche erwies sich also als besonders zweckmäßig.

Es mußte nun die Frage aufgeworfen werden, ob diese völlige Aufspaltung in Glucose auch in Gegenwart von Magnesiumsulfat und Ammonsulfat herbei-

<sup>1)</sup> *Sachsse*, Chemisches Zentralblatt 1877, S. 732.

zuführen sei. Meine Untersuchungen ergaben, daß dies keineswegs ohne weiteres der Fall war. Wenn ich starksalzhaltige Lösungen (Ammonsulfat oder Magnesiumsulfat) bei einer Konzentration von 2% Salzsäure hydrolysierte und dann aus der gefundenen optischen Drehung des Filtrates den Gehalt an Traubenzucker berechnete, so erhielt ich Werte, die nahezu doppelt so hoch waren wie die, welche sich nach der Hydrolyse desselben Stärkekleisters ohne Salzzusatz ergaben.

Bei der ausschlaggebenden Bedeutung, die die quantitative Überführung der Stärke in Zucker für mich hatte, mußte ich versuchen, möglichst genau die Bedingungen der Hydrolyse nach Zeit, Säurekonzentration und der statthaften Magnesiumsulfatmenge festzulegen. Ich benutzte zu den folgenden Versuchen einen sehr gleichförmigen, steril aufbewahrten Kleister, dessen Gehalt nach vollständiger Hydrolyse ich im Mittel auf 3,37% Zucker bestimmt hatte. Eine genau abgemessene Menge dieses Kleisters versetzte ich mit Magn. sulfur. pur. crist. in einem bestimmten Verhältnis und hydrolysierte die Lösung in 2proz. und in 4proz. Salzsäurekonzentration stets 3 Stunden. Die angegebenen Werte sind immer Mittelwerte aus 2 Parallelversuchen.

a) Um die Wirkung bei sehr starkem Salzgehalt festzustellen, wurden zu je 50 cem Kleister eine so große Menge Magnesiumsulfat in Substanz zugegeben, daß die Lösung ganz bzw. halb gesättigt war. Unter Berücksichtigung der Vergrößerung des Volumens wurde dann so viel Salzsäure zugegeben, daß die HCl Konzentration 2% bzw. 4% betrug. Sodann wurde 3 Stunden hydrolysiert und darauf auf 100 cem Lösung aufgefüllt.

b) Eine Reihe 50 cem-Kölbchen wurden mit 35 cem Kleister beschickt, dann 7,5 g, 5,0 g und 2,5 g Magnesiumsulfat und soviel Salzsäure zugesetzt, daß nach Auffüllen bis zur Marke die HCl-Konzentration 2% bzw. 4% betrug, mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt und 3 Stunden hydrolysiert. Schließlich wurde zu 20 cem Kleister 33,5 g Magnesiumsulfat zugegeben und nach Ansäuern ebenfalls auf 50 cem aufgefüllt. Die polarimetrische Untersuchung ergab folgende Werte, in Prozenten der ursprünglichen Flüssigkeit berechnet:

Tabelle Ia.

MgSO <sub>4</sub>	2% HCl	4% HCl	Verhältnis zum Grundwert
gesättigt	6,03%	3,826%	176 : 113 : 100
halbgesättigt	7,61%	3,867%	225 : 114 : 100

Tabelle Ib.

67%	6,300%	3,628%	178 : 107 : 100
15%	4,357%	3,25%	129 : 96 : 100
10%	3,50%	3,32%	103 : 99 : 100
5%	3,32%	3,29%	99 : 96 : 100

Die Tabelle zeigt, daß die Hydrolysenbehinderung sehr wesentlich von dem prozentualen Salzgehalt abhängig ist. In stark salzhaltigen Flüssigkeiten läßt sich auch in 4proz. HCl-Konzentration die restlose Verzuckerung anscheinend überhaupt nicht ganz bewerkstelligen; doch wird bei einem Gehalt von nur 15% Magnesiumsulfat die Behinderung unter Anwendung der doppelten Säuremenge aufgehoben. Sinkt der Salzgehalt unter 10%, so genügt auch schon die normale Säuremenge zur völligen Hydrolyse. In der letzten Abteilung der Tabelle sind die Verhältnisse der berechneten Zuckerwerte zum tatsächlichen

Gehalt der Lösung (3,37% = 100) angegeben. Es zeigte sich, daß in ähnlicher Weise auch die Hydrolyse der ausgefallenen Niederschläge behindert wurde, obschon doch die Menge des im Niederschlage enthaltenen Salzes nur eine verhältnismäßig geringe sein konnte.

Aus bestimmten Beobachtungen über die Stärke der Hydrolysenbehinderung scheint hervorzugehen, daß bei der Behinderung der Hydrolyse der Niederschläge nicht nur die Salz mengen, sondern vielleicht auch die absoluten Niederschlagsmengen und die Molekulargröße der ausgesalzten Produkte von Einfluß sind. Die Frage, in welcher Weise überhaupt die Anwesenheit von Salzen die Hydrolyse behindert, muß ich offen lassen.

Auf Grund dieser Ergebnisse verfuhr ich weiterhin bei der endgültigen Hydrolyse salzhaltiger Filtrate stets in der folgenden Weise: die Flüssigkeit wurde so weit verdünnt, daß der Salzgehalt 15% nicht überstieg, nunmehr auf 4% HCl gebracht und 3 Stunden lang hydrolysiert. Nach Beendigung der Hydrolyse wurde die Flüssigkeit, ohne zu neutralisieren, in flacher Schale auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen eingedampft und polarisiert. Auch die Hydrolyse der Niederschläge erfolgte stets in 4% HCl-Konzentration.

Welchen Einfluß hatte nun die Anwesenheit der an sich inaktiven Substanzen, Magnesiumsulfat und Salzsäure, auf die Drehung der Zucker? Ich verdanke die nachfolgenden Versuche Herrn Professor Dr. *Rosemann*, der schon früher<sup>1)</sup> den „Einfluß des Ammonsulfats auf die spezifische Drehung des Milchsuckers“ untersucht hatte und nach der in jener Arbeit veröffentlichten Methode die spezifische Drehung des Traubenzuckers in einer 33,5proz. Magnesiumsulfatlösung (halbgesättigt) auf 52,44° und in einer gesättigten Lösung auf 50,83° feststellte. — Ebenso untersuchte *Rosemann* den Einfluß der Salzsäure in verschiedenen Konzentrationen auf die spezifische Drehung des Traubenzuckers ( $[\alpha] = 52,5^\circ$ ) und kam zu dem Resultat, daß Salzsäure die spezifische Drehung des Traubenzuckers erhöhte, und zwar bei 2,68% HCl auf 52,53°, bei 8% auf 53,33°, bei 12% auf 53,98°, bei 20% auf 55,72° und bei 29,3% auf 58,99°.

Während also die Anwesenheit von Magnesiumsulfat die spezifische Drehung des Traubenzuckers in gesättigter Salzlösung um 1,67° verminderte, bewirkte Salzsäure eine Erhöhung der optischen Drehung, die allerdings erst in so stark konzentrierten Lösungen beträchtlich in die Erscheinung trat, wie sie für mich praktisch nicht mehr in Frage kamen. Ich glaube den drehungsvermindernden Einfluß des Magnesiumsulfates und den drehungsvermehrenden Einfluß der Salzsäure vernachlässigen zu können, zumal noch die gleichzeitige Anwesenheit beider Substanzen ihre Wirkung zum Teil kompensieren mußte<sup>2)</sup>.

Da sich nach den Resultaten der Tabelle I b für mich häufig die Notwendigkeit ergab, stark salzhaltige Lösungen vor der weiteren Hydrolyse der darin enthaltenen zuckergebenden Substanzen stark zu verdünnen, um den Salzgehalt auf höchstens 15% herabzusetzen, so entstand die Frage, ob bei dem nach der erfolgten vollständigen Hydrolyse notwendigen Eindampfen die Glucose durch die Anwesenheit von größeren Säuremengen zerstört werden könnte. Wenn auch nach *Rieschbieth*<sup>3)</sup> u. a. Glucose in konzentrierten Säuren (schon bei 7—10% HCl beginnend) unter Bildung von Lävulin säure und Huminsubstanzen zersetzt werden kann, so konnte

<sup>1)</sup> *R. Rosemann*, Zeitschr. f. physiol. Chemie **89**, 133. 1914.

<sup>2)</sup> Eine gute Literaturzusammenstellung über die Beeinflussung der spezifischen Drehung durch die Gegenwart verschiedener optisch inaktiven Substanzen siehe bei *Rona* und *Michaelis*, Biochem. Zeitschr. **16**, 62. 1909.

<sup>3)</sup> *Rieschbieth*, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft **20**, 1773. 1887.



ich doch in einem Probeansatz für meine Versuchsbedingungen keinen Verlust beobachten.

Ich hatte auch beabsichtigt, zur Beurteilung der Art der nach den Salzfällungen in den Filtraten noch enthaltenen Dextrine die Jodreaktion mit heranzuziehen. Die dabei erhaltenen Farbentöne waren aber so überaus mannigfaltig, daß ihre Bezeichnung trotz der von *Lowartz*<sup>1)</sup> nach Art der Forel-Uleschen Methode ausgearbeiteten Farbenskala große Schwierigkeiten machte. Die Farben waren Mischfarben aus blau, rot und gelb. Es war nun einerseits möglich, daß eine intensiv blaue Farbe die Färbung sich braun, rot oder violett färbender Dextrine völlig verdeckte; andererseits konnte die Reaktion größerer Dextrinmengen das Erkennen kleiner Mengen blaureagierender Stärke ganz unmöglich machen. Vollständig unbrauchbar wurde aber in dem vorliegenden Falle die Jodreaktion dadurch, daß die Affinität der Stärke und der Dextrine zu Jod ungleich war. Dadurch veränderte sich also bei jedem erneut zugegebenen Tropfen von verdünnter Jodjodkaliumlösung die Farbe zugunsten der weniger leicht reaktionsfähigen Substanzen, falls nicht schon von vornherein eine derart intensive Färbung eingetreten war, daß schwächere Töne daneben gar nicht aufkommen konnten.

Es galt nun festzustellen, in welcher Weise die Hydrolyse vorgenommen werden mußte, damit noch eine ausreichende Menge fällbarer Kohlenhydrate zurückblieb. Die begonnene Hydrolyse war also in einem geeigneten Augenblick zu unterbrechen.

Die bei den Säurekonzentrationen von 0,125% und 0,25% HCl ausgefallenen Niederschläge erschienen nach den angesetzten Proben am geeignetsten, um auch bei den erforderlichen Verdünnungen noch genaue Resultate für Niederschlag und Filtrat in Aussicht zu stellen.

Das Filtrieren selbst geschah durch einen Glaswollpfropfen, der sich durch den sich absetzenden Niederschlag selbst verdichtete und, von geringen Ausnahmen abgesehen, wasserklare Filtrate ergab. Eine hydrolytische Spaltung der schwach-sauren Filtrate in der Kälte trat nicht ein, was ich durch mehrfach wiederholtes Polarisieren derselben Lösung, nachdem sie mehrere Tage gestanden hatte, nachwies. Viel mehr war im Laufe der Zeit die bakterielle Zersetzung zu befürchten, die alles zu vermeiden empfahl, was die Dauer der Untersuchung verlängerte. Um daher die Menge der zu filtrierenden Lösungen auf ein möglichst geringes Quantum zu beschränken, ging ich dazu über, das Salz in Substanz in abgewogener Menge zuzufügen, anstatt es den schwachhydrolysierten Lösungen in Form von gesättigten Lösungen in einem bestimmten Volumen zuzusetzen.

Im Zusammenhang hiermit war zu untersuchen, in welchen Salzkonzentrationen die schwachhydrolysierten Stärkelösungen gesättigt werden mußten, um in den einzelnen Fällungsfractionen deutliche Unterschiede zu ergeben.

Ich hydrolysierte einen Kleister eine halbe Stunde in 0,25 proz. HCl-Konzentration, verteilte je 100 ccm dieser schwachhydrolysierten Lösung in kleine Erlenmeyerkolben, die ich mit Nummer 1—8 bezeichnete und setzte dann 10 g, 20 g, 30 g usw. bis zu 80 g Magnesiumsulfat hinzu. Ohne weiteres konnte man die verschiedenartige Bildung der Niederschläge bei den einzelnen Sättigungsgraden beobachten. Während bei 1 und 2 nur nach längerer Zeit eine schwache Sedimentierung am Boden erkennbar war, fand sich bei 3 unter gleichzeitiger Auflockerung des Bodensatzes eine schmale Schicht am oberen Rande der Flüssigkeit, die sich bei 4 deutlich vergrößerte. Bei der 4. Lösung setzte sich die untere Niederschlagschicht leicht vom Boden ab. Bei der 5. Lösung begannen sich die beiden Schichten zu vereinigen, um von 6 an nur eine gemeinsame Masse darzustellen, die den unter-

<sup>1)</sup> *Lowartz*, Diastase im Magensaft von *Potamobius astacus* L. Fermentforschung **3**, 247. 1919.

sten Teil der Lösung mehr oder weniger frei ließ und nach 8 hin deutlich voluminöser wurde. Bei den beiden letzten Lösungen zeigten sich am Boden erhebliche Mengen ungelöstes Salzes. Die ganze Beobachtung dieses Vorganges schien mir bereits darauf hinzudeuten, daß die ganze Aussalzung der verschiedenen Polysaccharide in mehreren ziemlich scharf voneinander getrennten Phasen vor sich ging. Dementsprechend zeigte auch der Vergleich der für die Niederschläge gefundenen Werte an zuckergebenden Substanzen keineswegs die Form einer arithmetischen Reihe, proportional der Menge des zugegebenen Salzes, sondern es waren deutlich 3 Fraktionen zu unterscheiden, innerhalb deren sich die Werte nicht sehr wesentlich verschoben. Folgende Tabelle möge das erläutern:

Tabelle II.

100 ccm Lsg. + g MgSO <sub>4</sub>		30 g	40 g	50 g	60 g	70 g	80 g
Zuckergehalt des Niederschlag	in Proz. der ursprüngl. Lösung	1,26%	1,37%	1,92%	2,10%	2,58%	2,65%
	in Proz. der ursprüngl. vorhand. Gesamtmenge	43,9%	47,9%	67,1%	73,2%	90,0%	92,2%

Es erschien sich hiernach zu erübrigen, die Salzkonzentration in so mannigfaltiger Weise zu verändern. Ich hielt es vielmehr für ausreichend, die Lösungen in Zukunft nur im Verhältnis von 1 : 3, 2 : 3 und 3 : 3 zu sättigen.

Es sollte schließlich in einem quantitativen Versuche die fallende Wirkung des Ammonsulfates untersucht werden, um die Angaben *Nasses* (a. a. O.), die schon durch meine orientierenden Versuche (vgl. S. 94) bestätigt wurden, dahin zu prüfen, ob in den weiteren vergleichenden Untersuchungen die Anwendung von Ammonsulfat oder von Magnesiumsulfat vorzuziehen sei.

Ich muß der Raumersparnis wegen darauf verzichten, meine mit Ammonsulfat angesetzten Versuche ausführlich wiederzugeben und muß mich darauf beschränken, die Endresultate mit denen eines Versuches mit Magnesiumsulfat zu vergleichen, was ohne weiteres möglich ist, da bei beiden Untersuchungen der benutzte Kleister auf annähernd die gleiche Weise hergestellt und jedesmal in 0,25proz. HCl-Konzentration  $\frac{1}{2}$  Stunde hydrolysiert war, doch mußte ich zum Zwecke der Vergleichung zunächst für beide Untersuchungen feststellen, zu wieviel Prozent die einzelnen Lösungen mit Salz gesättigt waren. In der folgenden Tab. III zeigt Stab 1 an, wieviel Prozent der ursprünglich vorhandenen zuckergebenden Substanz in der schwachhydrolysierten Lösung jeweils ausgesalzen sind. Stab 2 enthält den Grad der Sättigung und Stab 3 den Salzgehalt in Prozenten. In Stab 4 und 5 ist berechnet,

um wieviel das Volumen von 100 ccm Kleister durch Zugabe verschiedener Mengen von Magnesiumsulfat vergrößert wurde.

Tabelle III.

	Magnesiumsulfat				Ammonsulfat		
	5 ccm Kleister + g Salz	4 ccm Lösung	3 Salz- prozent	2 Sättigungs- prozent	1 ausgefallen	1 Sättigungs- prozent	2 3 Salz- prozent
1					10,02%	35,3%	22,8%
2	100 + 30	116	24,1%	36,1%	43,9%	43,91%	67,2%
3	100 + 40	121,7	32,0%	47,6%	47,9%		43,3%
4						57,47%	100%
5	100 + 50	127,1	39,3%	58,9%	67,1%		64,45%
6	100 + 60	133,3	45,0%	67,4%	73,2%		
7	100 + 70	139,3	50,2%	75,2%	90,0%		
8	100 + 80	145,1	55,1%	82,6%	92,2%		

Die überragende Wirkung des Magnesiumsulfates ist auffallend. Während durch Ammonsulfat in 100proz. Sättigung nur 57, 47% des Stärkegehaltes ausfallen, fallen in einer zu 82,6% mit Magnesiumsulfat gesättigten Lösung 92,2% der Gesamtstärke aus. In Abteilung 2 stimmen die durch Magnesiumsulfat und durch Ammonsulfat ausgefallenen Mengen der zuckergebenden Substanzen fast überein. Vergleiche ich aber die Stärke der Salzkonzentration, so sehe ich, daß fast doppelt soviel (1,84 : 1) Ammonsulfat als Magnesiumsulfat angewandt werden mußte, um die gleiche Wirkung zu erzielen.

Auf Grund der in diesen Voruntersuchungen gesammelten Erfahrungen konnte ich daran gehen, mittels Aussalzung vergleichende Untersuchungen über den Verlauf des säurehydrolytischen Stärkeabbaues bei verschiedener Dauer der Hydrolyse und verschiedenen Säurekonzentrationen anzustellen.

Die Versuchsanordnung war dabei folgende:

Ich stellte auf die auf Seite 93 beschriebene Weise eine größere Menge einer möglichst gleichförmigen, sterilen Stärkelösung her. Da sich der Kleister jedoch nach dem Erkalten noch als zu dick erwies, um durch die Glasröhre abgezapft werden zu können, gab ich noch eine größere Menge destillierten Wassers hinzu und wiederholte den ganzen Prozeß. Von dem so erhaltenen Kleister zapfte ich dann die für einen größeren Ansatz (Versuch A oder B) benötigte Menge ab und bestimmte ihren Gehalt an zuckergebender Substanz (vgl. S. 94). Um diesen Kleister schwach zu hydrolysieren, beschickte ich z. B. einen 200 ccm-Kolben mittels Bürette mit 190 ccm Stärkelösung, fügte dann die einer Säurekonzentration von 0,125—1,0% HCl entsprechende Menge Salzsäure hinzu und füllte mit destillem Wasser auf 200 ccm auf. Es wurden hierbei stets 2 Parallelversuche angesetzt und die beiden Kolben dann eine halbe Stunde (Versuch A) oder eine Stunde (Versuch B) in einem kochenden Wasserbade hydrolysiert. Der Hals der Kolben war beträchtlich über die Marke hinaus verlängert, damit der Kolben so tief in das Wasserbad versenkt werden konnte, daß der ganze Inhalt während der Dauer der Hydrolyse von kochendem Wasser umgeben war. Um nach einer bestimmten Zeitdauer die weitere Hydrolyse zu verhindern, wurden dann die Kolben unter fließen-

dem Wasser abgekühlt, was in 6—8 Minuten vollständig gelang. — Dann wurden drei 50 ccm-Kölbchen mit je 20 ccm der schwachhydrolysierten Stärkelösung beschiedt, 11 g bzw. 22 g oder 33 g Magnesiumsulfat zugesetzt und bis zur Marke aufgefüllt. Ich hatte dadurch eine zu  $\frac{1}{3}$ , eine zu  $\frac{2}{3}$  und eine ganz mit Magnesiumsulfat gesättigte Lösung erhalten ( $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Lösung). Nach mehrstündigem Stehen wurde die Lösung dann filtriert, der Niederschlag mit einer Lösung von entsprechendem Salzgehalt nachgewaschen und das Filtrat mit einer ebensolchen Lösung auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. Ein Teil des Filtrates wurde dann polarisiert, ein anderer Teil zur Vollendung der Hydrolyse unter Zusatz der erforderlichen Salzsäure in dem Maße verdünnt, wie es die in Tabelle I niedergelegten Erfahrungen verlangen. Es wurden demnach verdünnt:

- 50 ccm Filtrat  $\alpha$  auf 100 ccm (4% HCl, 11%  $MgSO_4$ ),  
 50 ccm Filtrat  $\beta$  auf 200 ccm (4% HCl, 11%  $MgSO_4$ ),  
 50 ccm Filtrat  $\gamma$  auf 250 ccm (4% HCl, 13,75%  $MgSO_4$ ).

Die in diesen Verdünnungen 3 Stunden lang hydrolysierten Filtrate wurden in einer flachen Schale auf dem Wasserbade eingedampft, auf ein bestimmtes Volumen gebracht und ihr Zuckergehalt dann polarimetrisch festgestellt. — Die Niederschläge wurden vom Trichter gelöst, in 4proz. Säure 3 Stunden hydrolysiert und der Zuckergehalt bestimmt. Leider war es aber nicht möglich, den Niederschlag völlig quantitativ zu erfassen. Wenn ich die Trichterfläche mit einem Gummwischer auch noch so sorgfältig abrieb, zeigten sich beim Übergießen mit Jodjodkaliumlösung immer noch kleine blaue oder blaurote Fleckchen, die nur mit schwacher Salzsäure loszulösen waren. Ebenso zeigten die inneren Flächen der Kölbchenhäuse häufig einen trüben Belag, der auf nicht vollständig ausgespülten Kleister zu deuten schien. Diese Tatsache entspricht der Beobachtung *Biedermanns*<sup>1)</sup>, der der Stärke eine geradezu spezifische Fähigkeit, an Glas oder Porzellan haften zu bleiben, zuschreibt. Diese Verluste, die ja an und für sich recht winzig waren, mußten also in Kauf genommen werden. Da aber durch die Verdünnungen des Kleisters mit Magnesiumsulfat und mit Wasser die absolute Zuckermenge sehr gering geworden war, wurden die Verluste sofort sehr deutlich sichtbar, sobald ich den absoluten Gehalt an Zucker auf den Wert der ursprünglichen unverdünnten Stärkelösung umrechnete. Es war natürlich, daß bei der Fraktion, die den größten Niederschlag erzeugt hatte, die Möglichkeit eines Verlustes am größten war. Brachte ich nun durch entsprechende Multiplikation die im Filtrat und im Niederschlag festgestellten Mengen zuckergebender Substanz auf den ursprünglichen Wert, so mußte ihre Summe theoretisch den Wert ergeben, den ich bei der Bestimmung der zu dem Versuch benutzten Stärkelösung an zuckergebenden Substanzen gefunden hatte. Da dies aber praktisch nie der Fall war, muß ich im Zusammenhang mit den oben dargestellten Verlustmöglichkeiten noch einer Fehlerquelle Erwähnung tun.

Bei polarimetrischen Untersuchungen muß von dem abgelesenen Winkel der auf  $\frac{1}{100}^\circ$  abgerundete Mittelwert des Nullpunktes abgezogen werden. Ist z. B. das Mittel des Nullpunktes aus 10 Ablesungen  $2,634^\circ$ , so runde ich auf  $2,63^\circ$  ab; finde ich  $2,635^\circ$ , so resultiert  $2,64^\circ$ . Diese an und für sich geringe Differenz von  $\frac{1}{100}^\circ$  macht sich aber sogleich da sehr stark bemerkbar, wo der abgelesene Winkel sich nur um wenig über den Nullpunkt erhebt, was bei den Zuckerlösungen, die ich aus den Niederschlägen verhältnismäßig stark hydrolysierten Lösungen erhalten hatte, häufig vorkam. Ist z. B. der abgelesene Winkel =  $2,656^\circ$  und subtrahiere ich den Nullpunkt  $2,64^\circ$ , so resultiert ein absoluter Zuckervert von 0,015% und ein unter Berücksichtigung der Verdünnung auf die Ursprungslösung umgerech-

<sup>1)</sup> *Biedermann*, Stärke, Stärkekörner, Stärkelösungen. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **183**, 168. 1920.

netter Wert von 0,078% Zucker, was 2,96% des Gesamtgehaltes ausmacht. Subtrahiere ich aber 2,63°, so ist der absolute Zuckerwert = 0,024% und der umgerechnete Wert 0,126%, d. i. 4,79% der Ursprungslösung. In einem Falle also, wo der subtrahierte Nullpunkt ursprünglich nur um  $\frac{1}{1000}^\circ$  differiert, können sich schon die auf den Gehalt der Ursprungslösung berechneten Prozentzahlen um fast 2% verschieben.

Ich gebe hier zunächst die Versuchsprotokolle über die  $\frac{1}{2}$  stündige Hydrolyse des Kleisters in verschiedenen HCl-Konzentrationen tabellarisch wieder (Versuch A) und wiederhole, daß jeder angegebene Wert das aus zwei Parallelversuchen errechnete Mittel ist.

**A. Magnesiumsulfat. HCl = Konzentration: 0,25%, 0,5%, 1,0%  $\frac{1}{2}$  Std. hydrolys.**  
Gehalt des Kleisters an zuckergebender Substanz 2,47%.

Tabelle IV.

HCl:	Drehungswinkel des Filtrats			Drehungswinkel des Filtrates $\alpha = 100$			Mittlere spez. Drehung		
	a			b			c		
	0,25%	0,5%	1,0%	0,25%	0,5%	1,0%	0,25%	0,5%	1,0%
$\alpha$	6,854°	7,762°	7,01°	100	100	100	203°	189°	154°
$\beta$	4,833°	7,323°	6,96°	70,5	94,3	99,3	232°	225°	174°
$\gamma$	3,159°	6,292°	6,89°	46,1	81,1	98,3	322°	244°	175°

Tabelle V.

HCl:		Zuckergehalt in Prozent der ursprünglichen Lösung			Zuckergehalt in Prozent der ursprünglich vorhand. Gesamtmenge		
		0,25%	0,5%	1,0%	0,25%	0,5%	1,0%
Filtrat	$\alpha$	1,69%	2,05%	2,28%	68,5%	83,1%	92,3%
	$\beta$	1,04%	1,63%	2,00%	42,1%	66,1%	81,1%
	$\gamma$	0,49%	1,29%	1,97%	20,0%	52,3%	79,9%
Nieder-schlag	$\alpha$	0,76%	0,13%	—	30,5%	5,2%	—
	$\beta$	1,12%	0,34%	—	45,4%	13,9%	—
	$\gamma$	1,35%	0,48%	0,07%	54,9%	18,1%	3,0%
		2,47%	2,47%	2,47%	100%	100%	100%

Tabelle VI.

		Zuckergehalt in Prozent der ursprünglichen Lösung				Zuckergehalt in Prozent der ursprünglich vorhandenen Gesamtmenge			
		Filtrat	Nieder-schlag	Summe	Fehlbetrag	Filtrat	Nieder-schlag	Summe	Fehlbetrag
0,25%	$\alpha$	1,69%	0,76%	2,45%	0,02%	68,5%	30,5%	99,0%	1,0%
	$\beta$	1,04%	1,12%	2,16%	0,31%	42,1%	45,4%	87,5%	12,5%
	$\gamma$	0,49%	1,35%	1,84%	0,66%	20,0%	54,9%	74,9%	25,1%
0,5%	$\alpha$	2,05%	0,13%	2,18%	0,29%	83,1%	5,2%	88,3%	11,7%
	$\beta$	1,63%	0,34%	1,97%	0,50%	66,1%	13,9%	80,0%	20,0%
	$\gamma$	1,29%	0,48%	1,77%	0,70%	52,3%	18,1%	72,4%	27,6%
1,0%	$\alpha$	2,28%	—	2,28%	0,19%	92,3%	—	92,3%	7,7%
	$\beta$	2,00%	—	2,00%	0,47%	81,1%	—	81,1%	18,9%
	$\gamma$	1,97%	0,07%	2,04%	0,43%	79,9%	3,0%	82,9%	17,1%

Die Betrachtung dieser Tabellen IV—VI gibt Aufschluß über die Wirkung der verschiedenen HCl-Konzentrationen in der gleichen Zeiteinheit ( $\frac{1}{2}$  Stunde). Der absolute Gehalt der Filtrate an zuckergebenden Substanzen muß natürlich stets zunehmen bei einer Einwirkung stärkerer Säure und abnehmen, wenn ich durch Anwendung stärkerer Salzkonzentrationen die Möglichkeit des Ausfallens für die hochmolekularen Zuckerarten erhöht habe. Ein entsprechendes Bild kann uns die Tabelle IV a nicht geben. Die dort niedergelegten Zahlen geben Gesamtdrehungen der Filtrate an, die aus der Summe der Drehungen einer großen Anzahl verschiedendrehender höherer und niederer Kohlenhydrate resultieren, deren Entstehung nach Art und Menge bei den verschiedenen Säurekonzentrationen nicht gleichmäßig ist. Man kann lediglich ein Abnehmen der Gesamtdrehung bei zunehmender Fällung bei den Filtraten *einer* Säurekonzentration beobachten. Die Abnahme der Gesamtdrehung der Filtrate bei zunehmender Sättigung ist aber bei den verschiedenen Säurekonzentrationen keineswegs regelmäßig. Bringe ich zum Vergleich die Zahlen der  $\alpha$ -Fraktion alle auf eine gleiche Basis (100) und berechne darauf die Werte der  $\beta$ - und  $\gamma$ -Fraktion (Tab. IV b), so ergibt sich, daß bei den Filtraten der am schwächsten hydrolysierten Lösungen die Wirkung der stärkeren Ausfällung auf die Gesamtdrehung der Filtrate eine bedeutend größere ist, als bei den stärker hydrolysierten Lösungen, woraus geschlossen werden muß, daß auch die Menge der bei den Einzelfractionen fällbaren Substanzen bei den am schwächsten hydrolysierten Lösungen am größten ist. Ich habe dann versucht, unter Zugrundelegung der Konzentration, die aus dem Glucosegehalt der Filtrate nach beendigter Hydrolyse (Tab. V) hervorgeht, für die Gesamtdrehungen der Tab. IV a die mittlere spezifische Drehung zu berechnen, die in Tab. IV c angegeben ist. Vergleiche ich die mittleren spezifischen Drehungen der Filtrate *einer* Fällungsfraction, so sehe ich, daß  $[\alpha]$  bei der Einwirkung stärkerer Säuren stets geringer wird, ein deutliches Zeichen, daß die im Filtrat enthaltenen Zuckerarten weiter abgebaut sind. In gleicher Weise war zu vermuten, daß die mittlere spezifische Drehung abnehmen mußte, sobald den Filtraten *einer* Säurekonzentration durch einen größeren Gehalt an ausfällenden Salzen weitere hochmolekulare starkdrehende Substanzen entzogen waren. Ein entsprechendes Bild gibt uns die Tab. IV c nicht. Den Grund glaube ich in Fehlern der Berechnung sehen zu müssen, die aus den oben ausgeführten Gründen bei denjenigen Filtraten, die den geringsten Gehalt an zuckergebender Substanz haben, am stärksten in die Erscheinung treten. Wenn ich aber auch einzelne, ganz auffallend hohe Werte ( $322^\circ$ ) aus der Betrachtung ausschalte, so glaube ich doch sagen zu können, daß die mittleren Drehungswinkel der Filtrate, die ich aus den schwächsten Hydrolysen

erhalten habe, zu hoch sind, um eine Anwesenheit von Glucose ( $[\alpha] = 52,5^\circ$ ) wahrscheinlich zu machen, da dadurch die Drehung der anderen, noch neben Glucose vorhandenen Zuckerarten auf ein unmöglich hohes Maß gesteigert würde.

Tab. V bringt nun die in Glucose übergeführten Mengen an zuckergebenden Substanzen, sowohl in absoluten Werten, als auch auf die in der Ursprungslösung enthaltenen Zuckermengen berechnet, die unbeeinträchtigt das Filter passiert haben und die als Niederschläge zurückgeblieben sind. Deutlich tritt hier die schon oben besprochene Zunahme des Zuckergehaltes der Filtrate bei stärkerer Hydrolyse und seine Abnahme bei stärkerer Salzfällung zutage. Bei den Niederschlägen ist das Ergebnis entsprechend umgekehrt. Bei letzteren zeigt sich vor allem, daß bei halbstündiger Hydrolyse eines Stärkekleisters in 1proz. Salzsäure bei der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Fraktion keine durch Magnesiumsulfat fällbaren Substanzen mehr zurückgeblieben sind, und daß bei der  $\gamma$ -Fraktion nur Spuren von Dextrinen ausgesalzen werden können.

In welchem Maße nun schreitet die Hydrolyse in der gleichen Zeiteinheit voran? Wenn ich auch aus den Erfahrungen der Eiweißfällung und aus meiner Tab. II die Folgerung ziehen muß, daß ein bestimmter vorhandener fällbarer Stoff bei einer gewissen Mindestkonzentration des Salzes auszufallen beginnt und daß seine Aussalzung bei einer höheren Konzentration vollendet ist, so stehe ich doch nicht an, im Rahmen meiner Betrachtungen die einzelnen Fraktionen als annähernd feststehend anzunehmen. Der Glucosegehalt der  $\alpha$ -Filtrate zeigt, daß die Hydrolyse der leicht fällbaren, also hochmolekularen Stoffe keineswegs um das durch die Verstärkung der Säure gegebene Verhältnis wächst; die Menge der zuckergebenden Substanzen des bei der  $\alpha$ -Fraktion in 0,25proz. HCl-Konzentration durchgelaufenen Filtrates wird bei Anwendung der doppelten Menge Säure nur um etwa den 5. Teil ihres Betrages vermehrt und erfährt bei der 4fachen Menge Salzsäure nur eine Zunahme um etwa  $\frac{1}{3}$ . Ganz anders ist es bei der  $\gamma$ -Fraktion, wo ich nur noch die nicht mehr fällbaren, d. h. also hochdispersen Stoffe im Filtrat habe. Der weitere Abbau der niederen Zucker wächst hier annähernd mit der Säurekonzentration im Verhältnis von 1:2,6:4. Die  $\beta$ -Fraktion zeigt bei dieser Betrachtung ein mittleres Verhältnis: 2:3:4. Es scheint mir hiernach also die Abbaufähigkeit der Polysaccharide mit der Größe ihres Dispersitätsgrades zu wachsen.

In Tab. VI habe ich nun den Glucosegehalt von Filtrat und Niederschlag nebeneinandergesetzt und berechnet, um wieviel sich die wirkliche Summe von der theoretischen entfernt. Da ich oben nachgewiesen habe, daß das Filtrat stets quantitativ in Glukose übergeführt werden kann, kann die Differenz nur dem Niederschläge angerechnet werden.

Daher ist der Gehalt des Niederschlages an Zucker stets als ein Mindestwert anzusehen.

In einem 2. Versuche B wurden die Stärkelösungen jeweils eine Stunde hydrolysiert, und zwar bei einer HCl-Konzentration von 0,125%, 0,25% und 0,5% Salzsäure.

Die gefundenen Werte sind in den nachfolgenden Tabellen in derselben Weise wie beim Versuch A angeordnet.

**B. Magnesiumsulfat. HCl-Konzentration: 0,125%, 0,25%, 0,5%.  
1 Std. hydrolys.**

Tabelle VII.

HCl:	Drehungswinkel des Filtrates a			Drehungswinkel des Filtrates $\alpha = 100$ b			Mittlere spez. Drehung c		
	0,125%	0,25%	0,5%	0,125%	0,25%	0,5%	0,125%	0,25%	0,5%
$\alpha$	9,854°	7,952°	7,282°	100	100	100	277°	168°	152°
$\beta$	8,554°	7,668°	7,305°	86,8	96,4	100,3	267°	177°	156°
$\gamma$	5,545°	6,995°	7,195°	56,3	88,0	98,6	243°	183°	169°

Tabelle VIII.

HCl:		Zuckergehalt in % der ursprünglichen Lösung			Zuckergehalt in % der ursprünglich vorhandenen Gesamtmenge		
		0,125%	0,25%	0,5%	0,125%	0,25%	0,5%
Filtrat	$\alpha$	1,78%	2,37%	2,39%	74,1%	91,2%	90,9%
	$\beta$	1,60%	2,17%	2,34%	66,5%	83,1%	89,2%
	$\gamma$	1,14%	1,91%	2,13%	47,2%	73,1%	80,9%
Niederschlag	$\alpha$	0,53%	0,21%	0,11%	22,0%	8,0%	4,3%
	$\beta$	0,76%	0,41%	0,19%	31,4%	11,6%	7,2%
	$\gamma$	1,37%	0,61%	0,07%	56,8%	23,5%	2,7%
Gehalt d. Kleisters an zuckergebend. Subst.		2,41%	2,61%	2,63%	—	—	—

Tabelle IX.

HCl		Zuckergehalt in % der ursprünglichen Lösung				Zuckergehalt in % der ursprünglich vorhandenen Gesamtmenge			
		Filtrat	Niederschlag	Summe	Fehlbetrag	Filtrat	Niederschlag	Summe	Fehlbetrag
0,125%	$\alpha$	1,78%	0,53%	2,31%	0,10%	74,1%	22,0%	96,1%	3,1%
	$\beta$	1,60%	0,76%	2,36%	0,05%	66,5%	31,4%	97,9%	2,1%
	$\gamma$	1,14%	1,37%	2,51%	+0,1%	47,2%	56,8%	104,0%	+4,0%
0,25%	$\alpha$	2,37%	0,21%	2,58%	0,03%	91,2%	8,0%	99,2%	0,8%
	$\beta$	2,16%	0,41%	2,57%	0,04%	82,7%	15,7%	98,4%	1,6%
	$\gamma$	1,91%	0,61%	2,52%	0,07%	73,1%	23,5%	96,6%	3,4%
0,5%	$\alpha$	2,39%	0,11%	2,50%	0,13%	90,9%	4,3%	95,2%	4,8%
	$\beta$	2,34%	0,19%	2,53%	0,10%	89,2%	7,2%	96,4%	3,6%
	$\gamma$	2,13%	0,07%	2,20%	0,43%	80,9%	2,7%	83,6%	16,4%

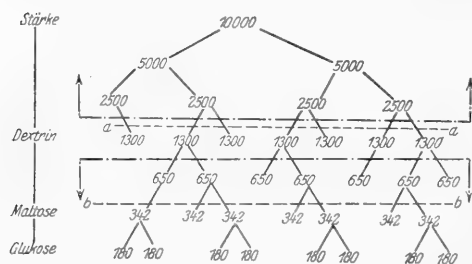


Die Tabellen haben viel Ähnlichkeit mit den vorigen. In Tab. VIIa sehen wir wieder das Abnehmen der Gesamtdrehung der Filtrate bei stärkerer Sättigung; in VII b, daß diese Abnahme bei den Einzelfractionen um so schwächer wird, je stärker die Lösung hydrolysiert ist. In Tab. VIIc finden wir wieder die nach der oben beschriebenen Methode berechneten mittleren Drehungswinkel der Substanzen, die unbeeinflusst das Filter passiert haben, und wir sehen, neben der allgemeinen Abnahme der mittleren spezifischen Drehungen der gleichen Fraction bei stärkerer Säureeinwirkung, in dem mit 0,125% HCl überschriebenen Teil die theoretisch zu erwartende Verminderung des  $[\alpha]$  bei stärkerer Salzsättigung. Im Gegensatz zu Tab. IVc bringt Tabelle VIIc viel weniger das mögliche Maß erheblich überschreitende Werte, wie ja auch aus Tab. IX zu ersehen ist, daß der Versuch B quantitativen Anforderungen in höherem Maße genügt. Aber auch hier sind die mittleren Drehungen der bei der schwächsten Säurekonzentration (0,125% HCl) bei allen Sättigungsgraden durchfiltrierten Substanzen so hoch, daß ich wie vorher die Anwesenheit von Substanzen von der Drehung der Glucose nicht annehmen möchte. Bei den beiden stärker hydrolysierten Lösungen dagegen kann Glucose im Filtrat wohl mit Wahrscheinlichkeit angenommen werden. Die berechneten mittleren spezifischen Drehungen sind nicht so hoch, um nicht einen höheren Drehungswinkel für einige Substanzen bei gleichzeitiger Anwesenheit von schwächerdrehenden Zuckern gestatten zu können. Bewiesen wird die Anwesenheit noch stärkerdrehender Substanzen qualitativ dadurch, daß die Filtrate der einzelnen Sättigungsfractionen noch mit Jod eine dunkelgelbe bis braunrötliche Reaktion gaben, die charakteristisch ist für Achroodextrin und Erythroextrin, deren spezifische Drehung auf  $190^\circ$  bis  $196^\circ$  angegeben wird; quantitativ dadurch, daß nach den Hydrolysen in allen Säurekonzentrationen nach Tab. VIII bei zunehmender Sättigung stets eine größere Menge zuckergebender Substanzen ausgefällt wird.

Auch im Versuch B nimmt der Gehalt des Filtrates an zuckergebenden Substanzen keineswegs proportional der Säurekonzentration zu, aber analog der Tab. V ist auch hier die zunehmende Wirkung der stärkeren Säurekonzentration bei dem Filtrat am deutlichsten zu erkennen, das am stärksten mit Magnesiumsulfat gesättigt ist, das also nur noch die niedrigsten Abbauprodukte enthält. Die stärkere Säurekonzentration ist der weiteren Spaltung der schon in einem höheren Grade im Abbau befindlichen Produkte in einem größeren Maße zugute gekommen, als den noch fällbaren Substanzen. Auffallend ist, daß die Menge der zuckergebenden Substanzen, die bei einer einstündigen Hydrolyse in 0,125proz. Salzsäure das Filter unbehindert passierten, durchweg diejenigen Mengen übertrifft, die nach halbstündiger Hydrolyse in

0,25proz. HCl-Konzentration nicht mehr fällbar waren. Der größere Einfluß der Zeit auf die Hydrolyse tritt hier ebenfalls bei den am wenigsten fällbaren Kohlenhydraten am deutlichsten in die Erscheinung. Die längere Dauer der Hydrolyse hat also wiederum besonders das Entstehen nicht mehr fällbarer Abbauprodukte begünstigt. Das Resultat beider Versuche zusammenfassend ist also zu bemerken, daß Dauer der Hydrolyse und Säurekonzentration von vornherein darauf hinwirken, die einmal im hydrolytischen Abbau begriffenen Spaltprodukte in möglichst niedrige Zuckerarten umzuwandeln. Bei diesem Prozeß ist die längere Dauer der Hydrolyse von größerem Einfluß als eine Verstärkung der Säurekonzentrationen.

Wenn ich nun auf Grund meiner Ergebnisse den Versuch mache, ein Bild von dem Verlauf der Hydrolyse zu gewinnen, so komme ich zunächst auf die eingangs erwähnten Theorien *Payens* und *Musculus'* zurück. Wenn ich für die Stärke das Molekulargewicht 10 000 annehmen würde, so würde die Spaltung dieses Stärkemoleküls nach der *Payenschen* Ansicht sich etwa so gestalten, wie das nachstehende Schema zeigt:



Schema 1 (nach Payen). — — — = Linie, die fällbare  
 ↑ und nicht fällbare ↓ Produkte trennt.

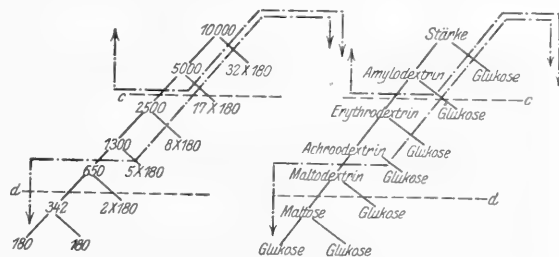
Das große Stärkemolekül zerfiel demnach in 2 kleine; diese in 4 noch kleinere vom Molekulargewicht 2 500. Diese Spaltung würde dann unter zunehmender Aufnahme von Wassermolekülen so weiter schreiten, bis schließlich 64 Glucosemoleküle vom Molekulargewicht 180 entstanden wären. Würde ich nun die Hydrolyse eines Stärkekleisters ganz zu Beginn des Prozesses, z. B. im Punkte a, unterbrechen, so würde eine Lösung resultieren, deren Bestandteile untereinander völlig gleich, durchweg das Molekulargewicht 2 500 hätten. Diese Moleküle müßten alle in gleicher Weise entweder durch Aussalzen fällbar oder nicht fällbar sein. Nehme ich an, daß sie fällbar wären, so müßte der ganze ursprüngliche Stärkegehalt als Niederschlag zurückbleiben und das Filtrat aus reinem Wasser bestehen. Würde ich aber die Hydrolyse etwas weiter, etwa bis zum Punkte b voranschreiten lassen, so würden in der Lösung nur noch Bestandteile vorhanden sein, die nicht mehr fällbar wären, im Filtrat der mit Salz gesättigten Lösung müßte dann die ganze Menge der ursprünglich vorhandenen Stärke in Gestalt niederer Zucker enthalten sein und überhaupt kein Niederschlag mehr auftreten. Bei Annahme dieses Schemas kann also das gleichzeitige Erscheinen eines Teiles der ursprünglichen Stärkemenge im

Niederschlag und eines anderen Teiles als zuckergebende Substanz im Filtrat, wie es bei meinen Versuchen durchgängig der Fall war, nicht eintreten. Danach scheint mir ein Abbau der Stärke nach diesem Schema ausgeschlossen zu sein.

Betrachten wir nun in ähnlicher Weise die Theorie von *Musculus*, so sehen wir, daß sich nach dieser Anschauung von einem Stärkemolekül so lange einzelne Glucosemoleküle abspalten, bis nur Glucose und Amylodextrin übrigbleibt. Von letzterem spaltet sich dann wieder Glucose ab und der Prozeß setzt sich unter sukzessivem Entstehen von Erythrodextrin, Achroodextrin und Maltodextrin so lange fort, bis schließlich nur noch die Maltose in 2 Moleküle Glucose zu zerfallen braucht, damit das ganze ursprüngliche Stärkemolekül in Glucose aufgespalten ist. Eine entsprechende Darstellung siehe in nachfolgendem Schema:

Würde ich nun bei einer nach diesem Schema verlaufenden Hydrolyse den Prozeß etwa in c unterbrechen, so könnte ich das dann in der Lösung vorhandene Amylo-

dextrin, das ich einmal als durch Ausfällen fällbar annehmen will, durch Sättigen mit Magnesiumsulfat von der nicht mehr fällbaren Glucose trennen. Das Filtrat enthielte in diesem Falle nur Glucose.



Schema 2 (nach *Musculus*). - - - = Linie, die fällbare  $\uparrow$  und nicht fällbare  $\downarrow$  Produkte trennt.

Länger fortgesetztes Kochen des Filtrates könnte demnach die Gesamtdrehung nicht mehr herabsetzen; sein aus der Konzentration berechneter mittlerer spezifischer Drehungswinkel müßte mit  $52,5^\circ$  dem der Glucose entsprechen. Würde ich dagegen annehmen, daß die Unterbrechung der Hydrolyse erst im Punkte d stattfände, so wäre es möglich, daß die bis dahin entstandenen Produkte Maltodextrin und Glucose gleichzeitig im Filtrat vorhanden wären; es dürfte dann aber kein Niederschlag zurückbleiben. Die mittlere Drehung des Filtrates würde dann bestimmt aus der Summe der Drehung von 1 Teil Maltodextrin und 61 Teilen Glucose. Der Anteil des Maltodextrins an der mittleren spezifischen Drehung wäre dann aber zu gering, um eine so hohe Drehung der Filtrate zu ermöglichen, wie ich sie auch bei Hydrolyseversuchen in stärkeren Säurekonzentrationen zu verzeichnen hatte.

Hiernach dürfte also sowohl die Ansicht *Payens* als auch die von *Musculus* nicht zu Recht bestehen können. Meine Beobachtungen

zwingen mich, anzunehmen, daß auf jedem Punkte der Hydrolyse eine gleichzeitige Aufspaltung der Stärke in Produkte von ganz verschiedener Größe stattfindet. In diesem Sinne hatte sich schon *Moreau*<sup>1)</sup> ausgesprochen. Im wesentlichen schließe ich mich seiner Ansicht an,

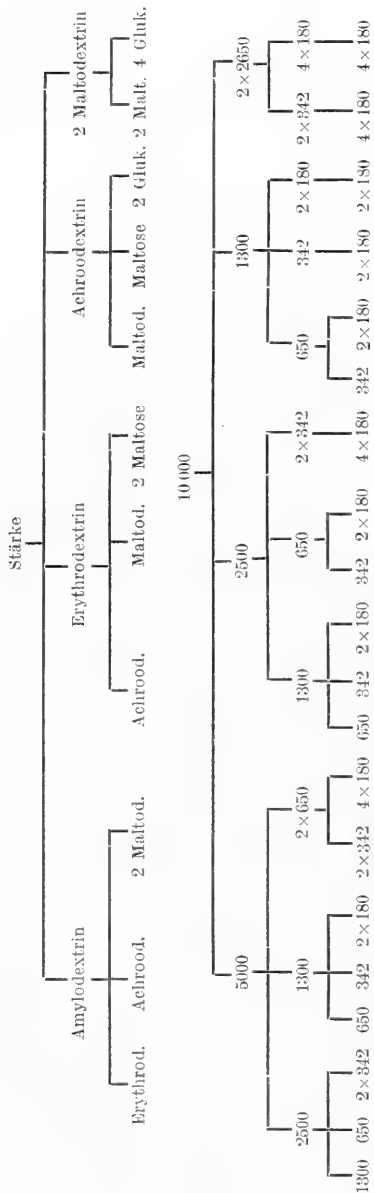
wenn ich auch das Entstehen von sehr schwach drehenden Zuckerarten gleich zu Beginn der Hydrolyse nicht annehmen zu können glaube, da die von mir berechneten mittleren Drehungswinkel der in den Filtraten enthaltenen zuckergebenden Substanzen (Tab. IVc und VIIc) dafür zu hoch sind. Ich stelle mir den Verlauf der Hydrolyse etwa in dieser Weise vor (Schema 3) und betone nochmals, daß die Darstellung natürlich nur ganz grob schematisch aufgefaßt werden darf:

Demnach würden jedesmal entstehen aus:

- |                   |                     |
|-------------------|---------------------|
| 1 Mol. Stärke     | 1 Mol. Amylodextrin |
|                   | 1 „ Erythroextrin   |
|                   | 1 „ Achroodextrin   |
|                   | 2 „ Maltodextrin    |
| 1 „ Amylodextr.   | 1 „ Erythroextrin   |
|                   | 1 „ Achroodextrin   |
|                   | 2 „ Maltodextrin    |
| 1 „ Erythroextr.  | 1 „ Achroodextrin   |
|                   | 1 „ Maltodextrin    |
|                   | 2 „ Maltose         |
| 1 „ Achroodextrin | 1 „ Maltodextrin    |
|                   | 1 „ Maltose         |
|                   | 2 „ Glucose         |
| 1 „ Maltodextrin  | 1 „ Maltose         |
|                   | 2 „ Glucose         |
| 1 „ Maltose       | 2 „ Glucose         |

Denke ich mir nun den ganzen Spaltungsvorgang in verschiedene Phasen zerlegt, so würden nach meinem Schema etwa gleichzeitig entstehen in der:

<sup>1)</sup> *Moreau*, Annales de la société Royale des sciences méd. et natur. de Bruxelles. 64. année. Tome XII. Fasc. 3. Referat in: Wochenschrift f. Brauerei 22, 37. 1905.



Schema 3.

1. Phase:	1 Amylodex.	1 Erythrod.	1 Achrood.	2 Maltod.		
2. „		1 Erythrod.	2 Achrood.	4 Maltod.	5 Maltose	6 Gluc.
3. „			1 „	3 „	8 „	28 „
4. „				1 „	4 „	52 „
5. „					1 „	62 „
6. „						64 „

Die Zunahme der entstandenen Glucose ist besonders stark zwischen der 2. und 3. und zwischen der 3. und 4. Phase; dann wird die Bildung weiterer Glucose langsam immer schwächer. Ich möchte dieses Phasenschema mit zu der Erklärung benutzen, warum die Bildung der Glucose aus Stärke mit zunehmender Hydrolyse immer langsamer vonstatten geht. Man hat eine Behinderung des Abbaues der Dextrine durch die zunehmende Menge fertiger Glucose angenommen; man hat auch geglaubt, daß die schon gebildete Glucose im weiteren Verlauf wieder zu Dextrinen revertiert würde<sup>1)</sup>. Aber diese beiden Annahmen erklären keineswegs, warum letzten Endes doch alle Stärke in Glucose gespalten wird. Nach dem obigen Schema glaube ich sagen zu können, daß die Menge der gebildeten Glucose in jedem Zeitpunkt der Hydrolyse einzig davon abhängt, wieviel höhere Zuckerarten zur weiteren Spaltung überhaupt oder überhaupt noch zur Verfügung stehen.

Will ich nun die Resultate meiner Versuche A und B auf obiges Phasenschema übertragen, so würde ich etwa annehmen, daß Amylodextrin schon bei  $\frac{1}{3}$  Sättigung auszufallen beginnt, Erythrodextrin in  $\frac{2}{3}$  Sättigung fällt, und Achroodextrin durch Ganzsättigung noch teilweise ausgesalzen werden kann. Bei einer  $\frac{1}{2}$ stündigen Hydrolyse in 1,0 proz. Säurekonzentration wäre dann die Spaltung etwa bis zur 3. Phase vorgeschritten: Nur bei Ganzsättigung wird noch ein geringer Teil des Achroodextrins ausgesalzen. Alles übrige ist schon in die nicht mehr fällbaren Produkte Maltodextrin, Maltose und Glucose umgewandelt. Ich habe oben schon darauf hingewiesen, daß die längere Dauer der Hydrolyse insbesondere der weiteren Spaltung der niederen Zuckerarten zugute kommt. Dementsprechend wäre die einstündige Hydrolyse in 0,5 proz. Säurekonzentration etwa bis zu einem zwischen der 2. und 3. Phase liegenden Stadium vorgeschritten. Es sind schon bei der  $\alpha$ -Fraktion Spuren von noch nicht abgebautem Amylodextrin ausgefallen, die  $\beta$ - und  $\gamma$ -Fraktion setzt das Aussalzen fort; aber die Dauer der Hydrolyse hat dennoch einen sehr beträchtlichen Teil der Lösung zu nicht mehr fällbaren Substanzen umgewandelt. Bei einer schwächeren Hydrolyse z. B. eine  $\frac{1}{2}$  Stunde in 0,25% Salzsäure, ist der Verzuckerungsprozeß nur bis zum 1. Stadium vorangeschritten. Die Tab. VIII gibt an, daß bei der  $\beta$ -Fraktion 45,4% der schwachhydrolysierten Lösung als Niederschlag zurückbleiben, ein Wert, der aus den dort angeführten

<sup>1)</sup> Wohl, Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft **23**, 2101. 1890.

Gründen als Mindestwert gerechnet werden muß. Ich kann danach annehmen, daß also bei der  $\beta$ -Fraktion zumindest alles Amylodextrin, wahrscheinlich auch ein Teil des Erythrodextrins ausgesalzen ist. Die ganze Menge der ausgesalzenen Produkte macht nach Tab. VIII, unter Berücksichtigung der Verluste, reichlich die Hälfte aller der ursprünglich in der schwachhydrolysierten Lösung enthaltenen Abbauprodukte aus, was auch dem Phasenschema annähernd entspricht, wo ein Teil Amylodextrin der Summe von 1 Teil Erythrodextrin, 1 Teil Achrodextrin und 2 Teilen Maltodextrin gleichzusetzen ist.

Auf welche chemischen oder physikalisch-chemischen Verhältnisse ist nun die eigentümliche Aufspaltung zurückzuführen? Nach *Lippmann* (a. a. O.) suchen einige Forscher die Art des Abbaues auf das Bestreben zurückzuführen, zwischen den kolloiden und den kristalloiden Bestandteilen während der Hydrolyse möglichst lange ein gewisses Gleichgewicht zu behalten. Mir scheinen die folgenden Überlegungen berücksichtigt werden zu müssen:

Vergleichen wir in Tab. II die bei einer  $\frac{1}{2}$ stündigen Hydrolyse in 0,25proz. HCl-Konzentration gewonnenen Niederschläge mit den entsprechenden in Tab. V, so ergibt sich, daß im letzteren Falle die bei höchster Sättigung ausgefallene Menge zuckergebender Substanzen um etwa 30% geringer ist, als bei dem früheren Versuch, obwohl die Versuchsbedingungen nicht erheblich verschieden waren. Wesentlich anders aber war die Vorbehandlung des Materials. Dort war der Kleister nach dem üblichen Verfahren einfach durch etwa 10–20 Minuten anhaltendes langsames Kochen hergestellt; hier aber war das kompliziertere Verfahren angewandt: Langsames Aufkochen im Topf, Durchsaugen mit Kochen unter vermindertem Druck und Sterilisieren, so daß, zumal das Verfahren ja noch einmal wiederholt wurde, die Stärke zumindest 2 Stunden lang einer Temperatur von 80° ausgesetzt war. Nun hatte schon *Bütschli*<sup>1)</sup> eine teilweise Aufspaltung der Stärke in kochendem Wasser für wahrscheinlich gehalten, und *Biedermann*<sup>2)</sup> beschreibt eingehend das allmähliche Austreten der reinen Amylose aus dem Stärkekorn. Dieser Prozeß dürfte nun bei dem sterilen Kleister wesentlich weiter vorausgeschritten sein.

Nach diesen Erwägungen und unter Berücksichtigung der Tabelle dürfte also die Wirkung der Salzsäure zu Beginn der Hydrolyse um so größer sein, je mehr Substrat ihr an Amylose zur Verfügung steht, die schon in kolloider Lösung sich befindet. Im weiteren Verlauf tritt die Säurewirkung da am erkennbarsten auf, wo sie infolge der größten

<sup>1)</sup> *Bütschli*, Untersuchungen über Amylose und amyloseartige Körper. Verhandl. des naturhist.-mediz. Vereins, Heidelberg 1903.

<sup>2)</sup> *Biedermann*, Stärke usw. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **183**, 168. 1920.

Oberfläche der suspendierten Teilchen die beste Einwirkungsmöglichkeit hat: das sind jeweils die kleinsten vorhandenen Moleküle, die den höchsten Dispersitätsgrad besitzen. Während dieses Vorganges geht nun allmählich auch der noch im Stärkekorn befindliche Teil der Amylose in Lösung, deren Haftfähigkeit am Pektin umgekehrt proportional zu ihrer Menge sein soll. Ich erinnere hier daran, daß alle früheren Untersuchungen die Annahme übereinstimmend bringen, daß die Stärke vor dem säurehydrolytischen Abbau „in Lösung“ geht.

In diesem Sinne ist es gar nicht sicher, sondern durch nachfolgende Versuche sogar als unwahrscheinlich anzusehen, daß mein auf die komplizierte Art hergestellter Kleister wirklich nur Stärke, d. h. Amylopektin und reine Amylose enthielt oder ob sich im Kleister schon von vornherein Abbauprodukte befinden, sei es, daß sie ihr Dasein *Bütschlis* Kochhydrolyse verdanken, sei es, daß sie bei der Vorbehandlung des Korns, bei der Gewinnung der Stärke entstanden sind.

Ich hatte je 10 ccm eines Kleisters mit steigenden Mengen von Magnesiumsulfat (1—20 ccm gesättigte Lösung) versetzt. Bei einem Zusatz von 5 ccm Lösung (d. i. 22,3% Magnesiumsulfat) erhielt ich schon klare Filtrate, die sich aber mit Jod stets blau färbten. Erhöhte ich den Salzgehalt durch Zugabe von 10 ccm Lösung auf 33,5% Magnesiumsulfat, so begann das Filtrat sich gleich zu trüben, was bei noch höherer Sättigung (44,7%) noch deutlicher wurde. Die Trübung schien mir auf ein Dextrin zu deuten, das erst bei der stärkeren Sättigung, zunächst unfiltrierbar ausfiel. Nachfolgender Versuch sollte diese Erscheinung quantitativ bestätigen:

Ich versetzte je 20 ccm des sterilen Kleisters mit 11 g, 22 g und 33 g Magnesiumsulfat und füllte auf 50 ccm auf. Nach längerem Stehen filtrierte ich mit Glaswolle ab und untersuchte Niederschlag und Filtrate. Die Filtrate der  $\beta$ - und  $\gamma$ -Fraktion ergaben negative Jodproben und eine Drehung von  $0,049^\circ$  bzw.  $0,008^\circ$ , Zahlen, die fast innerhalb der Fehlergrenzen liegen. Die Hydrolyse der aufgelösten Niederschläge ergab nahezu den ursprünglichen Gehalt der Stärkelösung und die Untersuchung des weiter hydrolysierten Filtrates ergab keine Anwesenheit von Zucker. Die Filtrate der  $\alpha$ -Fraktion zeigten dagegen bei einer mittleren Drehung von  $0,14^\circ$  eine zwar schwache, aber deutlich violette Jodreaktion. Der Zuckergehalt des Filtrates wurde nach der Hydrolyse auf 0,053% berechnet, was ungefähr 2% des Gesamtgehaltes ausmachte. Wenn auch die absoluten Mengen des gefundenen Dextrins außerordentlich gering sind, so erscheint mir doch die Tatsache des Bestehens eines Abbauproduktes in dem von mir mit Säure nicht besonders vorbehandelten Kleister als sehr beachtenswert.

### Zusammenfassung.

Die wichtigsten Ergebnisse meiner Untersuchungen fasse ich in folgendem zusammen:

1. Für das Aussalzen von Stärke und ihrer Abbauprodukte sind Magnesiumsulfat und Ammoniumsulfat besonders geeignet; Magnesiumsulfat wirkt dabei unter sonst gleichen Verhältnissen etwa doppelt so stark wie Ammoniumsulfat.

2. Schon nach einer halbstündigen Hydrolyse eines Stärkekleisters in 1% Salzsäure sind keine mit Magnesiumsulfat ausfällbaren Stoffe mehr vorhanden, die Flüssigkeit enthält aber noch Körper mit hohem Drehungsvermögen. Die Fällbarkeit durch Magnesiumsulfat kommt also nur den besonders hochmolekularen Abbauprodukten der Stärke zu und geht bei fortschreitender Hydrolyse schon bald verloren.

3. Der Abbau der Stärke bei der Säurehydrolyse erfolgt nicht so, daß das Stärkemolekül zunächst in 2 gleiche Moleküle eines hochmolekularen Stoffes, jedes von diesen sodann weiter in 2 Moleküle eines Körpers mit etwas niederem Molekulargewicht und so weiter fortschreitend zerfällt, — auch nicht so, daß von dem Stärkemolekül gleich anfangs Glucose abgespalten wird unter Entstehung eines Körpers mit etwas kleinerem Molekulargewicht, der dann selbst wieder unter wiederholter Abspaltung von Glucose immer weiter abgebaut wird. Vielmehr zerfällt gleich von Anfang an das Stärkemolekül in mehrere untereinander verschiedene Körper von teils hohem, teils kleinerem Molekulargewicht; dabei entsteht wahrscheinlich anfangs noch keine Glucose, sondern höchstens Maltose. Die Stoffe von höherem Molekulargewicht zerfallen dann ihrerseits wieder gleichzeitig in Körper von verschieden hohem Molekulargewicht usw., wobei dann allmählich auch Glucose auftritt.

4. Die Spaltbarkeit durch Säurehydrolyse wird um so größer, je kleiner bereits das Molekulargewicht der Stoffe geworden ist.



# Kurze Mitteilungen.

## Untersuchungen mit farbigen Schwellenprüflichtern über den Dunkeladaptationsverlauf des normalen Auges.

Von  
Arnt Kohlrausch.

(Aus der physikalischen und sinnesphysiologischen Abteilung des physiologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 20. Juli 1922.)

*Piper*<sup>1)</sup> fand bei seinen Untersuchungen über den Verlauf der Dunkeladaptation peripherer Netzhautpartien an einer Reihe Versuchspersonen, daß die Reziproken der Schwellenwerte als Funktion der Zeit des Dunkelaufenthaltes eine S-förmig gekrümmte Kurve darstellen, deren Anfangsstück bis gegen 10 Minuten und Endstück von etwa 45 Minuten Dunkelaufenthalt ab fast parallel zur Abszisse laufen. Ging er nicht von sehr hohen, sondern geringeren Graden der Helladaptation aus, so fehlten mehr oder weniger lange Stücke des flachen Anfangsverlaufes; d. h. die Kurve war in sich parallel gegen den Nullpunkt der Abszisse hin, den Beginn des Dunkelaufenthaltes, verschoben. Diese Befunde sind von mehreren anderen Untersuchern bestätigt.

Neuerdings hat *Hecht*<sup>2)</sup> die Versuche *Pipers* umgerechnet und gibt an, daß die Logarithmen der von *Piper* bestimmten Schwellenwerte als Funktion der Zeit auf der Isotherme einer bimolekularen Reaktion liegen. An den von *Hecht* publizierten Kurven — am deutlichsten auf Abb. 7<sup>3)</sup> — fällt jedoch ebenfalls eine flach S-förmige Abweichung der beobachteten Werte von dem berechneten Verlauf auf; die beobachtete Kurve fällt erst flacher, dann steiler ab, als die entsprechende Bimolekular-Isotherme.

Der Zweck meiner hier kurz mitzuteilenden Versuche<sup>4)</sup> ist, festzustellen, ob und unter welchen Bedingungen auch die Kurve der

<sup>1)</sup> *H. Piper*, Zeitschr. f. Psychol. u. Physiol. d. Sinnesorg. **31**, 178 und 183. 1903.

<sup>2)</sup> *S. Hecht*, Journ. of gen. physiol. **2**, 499. 1920.

<sup>3)</sup> A. a. O., S. 511.

<sup>4)</sup> Die ausführliche Veröffentlichung des Zahlen- und Kurvenmaterials erscheint demnächst.

Schwellenwert-Logarithmen während fortschreitender Dunkeladaptation in S-förmiger Krümmung abfällt, wodurch dieser evtl. komplizierte Verlauf zustandekommt und wie er theoretisch zu verwerthen ist.

### Methodik:

Konstanter, ziemlich ausgiebiger Helladaptationsgrad; während der folgenden Dunkeladaptation Bestimmung meines Schwellenwertverlaufs foveal und in  $1,5^\circ$ ,  $5^\circ$  und  $10^\circ$  Abstand senkrecht unter dem Fixierpunkt an einem kreisrunden, verschieden gefärbten, monokular beobachteten Feld von  $1^\circ$  Durchmesser. — Helladaptation 10 Sekunden lang bei künstlicher konstanter Beleuchtung eines großen weißen Schirms, dessen Flächenhelligkeit =  $0,14 \text{ HK/qcm}$ , entsprechend etwa  $5500 \text{ Lux}$  senkrecht auf Magnesiumoxyd. — Schwellenwertmessung je nach der Lichtdurchlässigkeit der vorgesetzten Farbfilter entweder an *Pipers* Adaptometer<sup>1)</sup> oder an einer Doppelzimmeranordnung mit optischer Bank. — Rotes Fixierpünktchen von etwa  $\frac{1}{20}^\circ$  Durchmesser auf die jeweils geringste, noch gut zur Fixation zwingende Helligkeit reguliert. — Rhythmische unwissentliche Unterbrechung des Reizes, nicht des Fixierpunktes, durch geräuschlos gehendes Pendel, wodurch Feld abwechselnd 1 Sekunde frei, 1 Sekunde verdeckt. — Unwissentliche Einstellung der generellen Schwellen von wenig überschwelligen Werten aus im absteigenden Verfahren bis zum eben noch wahrnehmbaren rhythmischen Verschwinden und Wiederauftauchen eines Lichtschimmers. — Bei der Auswahl der farbigen Lichter wurde das Hauptgewicht auf möglichst große Differenzen in dem Verhältnis ihrer Tages- und Dämmerungswerte<sup>2)</sup> gelegt und weniger auf spektrale Reinheit, da sich in Vorversuchen ersteres als ausschlaggebend, letzteres ohne merklichen Einfluß erwies. Die Farben der untersuchten Lichtgemische (bzw. die von den Filtern durchgelassenen Wellenlängenbereiche) waren: ein (etwas gelbliches) „Weiß“ (Osramlampe hinter den drei Milchglasscheiben von *Pipers* Adaptometer), „Rot I“ ( $730\text{—}685 \mu\mu$ ), „Rot II“ ( $750\text{—}595 \mu\mu$ ), „Rot III“ (langwelliges Spektralende bis  $580 \mu\mu$ ), „Orange“ (lichtstark: langw. Ende bis  $580 \mu\mu$ , lichtschwach:  $580\text{—}470 \mu\mu$ ), „Grün“ (langwelliges Ende —  $700 \mu\mu$ ,  $575$  bis  $495 \mu\mu$ ), „Blau“ (langw. Ende —  $680 \mu\mu$ ,  $580 \mu\mu$  — kurzw. Ende). „Rot I“ hatte keinen meßbaren Dämmerungswert, alle übrigen einen gut meßbaren und, wie beabsichtigt, sehr verschiedenen hohen. Verglichen mit dem „Weiß“ war der

Quotient  $\frac{D}{T}$  (Dämmerungswert: Tageswert) bei „Rot I“ =  $0,00$ ; „Rot II“ =  $0,02$ ; „Rot III“ =  $0,04$ , „Orange“ =  $0,11$ ; „Weiß“ (definitionsgemäß) =  $1,0$ ; „Grün“ =  $2,5$ ; „Blau“ =  $3,0$ . — Die den Kurvenzeichnungen zugrundegelegten Schwellenwertzahlen sind die Mittelwerte aus je 4—6 unter den gleichen Bedingungen angestellten Adaptationsversuchen. Der wahrscheinliche Fehler dieser einzelnen Mittel ist durchschnittlich  $\pm 4\%$  des Wertes. Die Zahlen sind absolute und bedeuten für „Weiß“ die Stärke der weißen Beleuchtung senkrecht auf Magnesiumoxyd, die dem jeweiligen Schwellenwert photometrisch gleich ist. Als Einheit der Beleuchtung ist ein Mikrolux ( $= 1 \mu \text{Lux} = 1 \cdot 10^{-6} \text{ Lux}$ ) gewählt. Bei den Farben bedeuten die für die Schwellen ermittelten Tageswertzahlen die Anzahl Mikrolux

<sup>1)</sup> Beschreibung: *H. Piper*, *Klin. Monatsbl. f. Augenheilk.* 1907, S. 359.

<sup>2)</sup> Im folgenden ist unter „Tageswert“ der Lichter ihr für mein Auge unter den Bedingungen des Tagessehens (Helladaptation, helle Lichter) foveal gültiger Helligkeitswert ( $1^\circ$  Feld, Flimmermethode) verstanden, unter „Dämmerungswert“, wie üblich, ihr extrafoveal für mein Auge unter den Bedingungen des Dämmerungssehens (Dunkeladaptation, Lichtintensität unterhalb der Farbenschwelle) gültiger Helligkeitswert ( $6^\circ$  Feld, Fleckmethode).

von weißem Licht senkrecht auf Magnesiumoxyd, die den Schwellenwerten für die Fovea meiner normal-trichromatischen Augen flimmerphotometrisch äquivalent sind. Und entsprechend bedeuten die Dämmerungswertzahlen die Anzahl Mikrolux senkrecht auf Magnesiumoxyd, die den Schwellenwerten für extrafoveale Teile meiner Augen nach der Fleckmethode dämmerungsäquivalent sind.

#### *Ergebnisse:*

Mit dem praktisch dämmerungswertfreien Licht „Rot I“ ist der Schwellenwertverlauf an allen untersuchten Netzhautstellen innerhalb der Fehlergrenzen derselbe; bei logarithmischer Ordinatenenteilung (Schwellenwerte) laufen die foveal und in den verschiedenen Zentralabständen mit „Rot I“ aufgenommenen Kurven in konstant bleibendem Ordinatenabstand nebeneinander her, wobei die Ordinatenhöhe mit wachsendem Zentralabstand zunimmt. — Bei allen Lichtern mit positivem Dämmerungswert macht es jedoch bezüglich des Schwellenwertverlaufes einen ausschlaggebenden Unterschied, ob man foveal oder extrafoveal untersucht. Auf  $1^\circ$  Feld in der Fovea fand ich in Übereinstimmung mit *v. Kries* und *Nagel*<sup>1)</sup> keine Spur von *Purkinjeschem* Phänomen, statt dessen traten hier im Verlauf der Dunkeladaptation andere verwickeltere Verschiebungen des Schwellenwertverhältnisses der Lichter auf, die in der folgenden Mitteilung beschrieben werden sollen. Der Kurventypus ist foveal bei allen Lichtern derselbe, wie extrafoveal bei „Rot I“: In den ersten Minuten steiler Abfall, der allmählich flacher wird; nach 10–15 Minuten nur sehr langsames Weitersinken. — Auf  $1^\circ$  Feld in  $1,5^\circ$ ,  $5^\circ$  oder  $10^\circ$  Fixierpunkt-abstand besteht dagegen überall das *Purkinjesche* Phänomen, d. h. die Schwellenwerte sinken mit zunehmender Dunkeladaptation um so tiefer ab, je größer das Verhältnis Dämmerungswert: Tageswert (im folgenden mit  $\frac{D}{T}$  bezeichnet) des betreffenden Lichtes ist. Die Unterschiede zwischen den verschiedenen *extrafovealen* Netzhautstellen sind lediglich graduell: die Adaptationsbreite und -geschwindigkeit wachsen mit zunehmendem Fixierpunkt-abstand. — Unter den zuletzt genannten Bedingungen ist nun zugleich der Kurventyp ganz anders: die Schwellenwertkurven fallen mit einer S-ähnlichen Krümmung ab; die genauere Untersuchung zeigte jedoch, daß sie dann tatsächlich aus zwei nach oben konkaven Stücken verschiedener Steilheit bestehen, die mit einem ziemlich scharfen Knick gegeneinander abgesetzt sind.

Es ergaben sich dabei folgende Gesetzmäßigkeiten:

1. Die Schwellenwertkurven haben niemals diesen Knick, auch während eines mehrere Stunden fortgesetzten Dunkelaufenthaltes nicht: a) im Netzhautzentrum bei Verwendung beliebiger Schwellen-

<sup>1)</sup> *I. v. Kries* und *W. Nagel*, Zeitschr. f. Psychol. u. Physiol. d. Sinnesorg. **23**, 116. 1900.

prüflichter; b) auf beliebigen extrafovealen Netzhautstellen (innerhalb des untersuchten Bereiches) bei Verwendung eines rein-roten Prüflichtes ohne Dämmerungswert.

2. Auf extrafovealen Netzhautstellen und bei Schwellenprüflichtern mit Dämmerungswert können die Kurven je nach den Bedingungen früher oder später den Knick haben.

3. Die Zeitdauer bis zu dem Knick ist abhängig: a) von der Stärke der vorausgegangenen Helladaptation; b) vom Netzhautort; c) von der Größe des Quotienten  $\frac{D}{T}$  des Prüflichtes; und zwar wächst die Zeit bis zum Knick mit steigendem Helladaptationsgrad, abnehmendem Zentralabstand und abnehmendem Quotienten  $\frac{D}{T}$ . (Daher kann bei geringem Helladaptationsgrad, großem Zentralabstand und kurzwelligem Prüflicht die Kurve erst jenseits des Knickes beginnen.)

4. In der Zeit bis zu den Knicken fallen die Schwellenwertkurven flach ab und das schwellenmäßige Sehen hat noch die charakteristischen Eigenschaften des Tagessehens: die Schwellenwertkurven der verschiedenen Lichter fallen innerhalb der Fehlergrenzen auf tagesäquivalenten Werten zusammen und die Farbenschwelle ist mit der generellen identisch oder liegt unmittelbar über ihr.

5. Jenseits der Knicke fallen die Kurven plötzlich steiler ab und erst jetzt bekommt das schwellenmäßige Sehen die Charakteristica des Dämmerungssehens: die Schwellenwertkurven der verschiedenen Lichter fallen auf dämmerungsäquivalenten Werten praktisch zusammen und das farblose Intervall wächst mit zunehmendem Dunkelaufenthalt, so daß die generelle Schwelle schließlich bedeutend unter der Farbenschwelle liegt.

Zahlen oder Kurvenbeispiele zu geben, ist in dieser kurzen Mitteilung nicht möglich.

Die Ergebnisse unter 4 und 5 sind eine anschauliche Demonstration der bekannten Tatsache, daß im Bereich des reinen Tagessehens einerseits und Dämmerungssehens andererseits die Äquivalenzverhältnisse der verschiedenen Lichter annähernd konstant und einigermaßen unabhängig vom Adaptationszustand sind. Ferner läßt sich aus den Ergebnissen folgender Satz ableiten: Ein homogenes Licht und eine beliebige Lichtermischung haben *cet. par.* extrafoveal dieselbe Adaptationskurve, wenn sie sowohl tages- wie dämmerungsäquivalent sind.

Zu einer theoretischen *Deutung* der Ergebnisse kommt man ähnlich wie Piper<sup>1)</sup> und neuerdings Honigmann<sup>2)</sup> am einfachsten vom Standpunkt der Duplizitätstheorie aus, denn die zwei verschiedenen Kurvenkrümmungen vor und

<sup>1)</sup> H. Piper, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1907, S. 362ff.

<sup>2)</sup> H. Honigmann, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 189, 1—72. 1921.

nach dem Knick lassen ungezwungen den Schluß zu, daß sich während der fortschreitenden Dunkeladaptation die Empfindlichkeiten zweier verschiedener Sehapparate mit verschiedenen Geschwindigkeiten überkreuzen. In der Zeit bis zu dem Kurvenknicke perzipiert man auch an der Schwelle noch mit dem Tagesapparat, jenseits des Knicks erst mit dem Dämmerungsapparat. Nach guter Helladaptation ist anfangs die Empfindlichkeit des Dämmerungsapparates noch sehr gering, seine Schwelle liegt *bedeutend über* der des Tagesapparates, erst jenseits des Knicks ist sie die tiefere.

Die Ergebnisse haben zwei noch kurz anzudeutende theoretische Folgerungen:

1. Da die übliche Adaptationskurve („Weiß“ extrafoveal nach hochgradiger Tageslichtadaptation) aus zwei ganz heterogenen Stücken zusammengesetzt ist, wird sie kaum in ihrem ganzen Verlauf durch *einen* mathematischen Ausdruck, wie bei *Hecht*, wiederzugeben sein. Man muß zunächst einmal versuchen, die beiden Teile gesondert zu analysieren. Derartige Analysen haben bei meinen Kurven bislang nicht zu einfachen, theoretisch brauchbaren Ausdrücken geführt.

2. Ein Schluß aus derselben üblichen Adaptationskurve auf eine *physiologische* Anfangsverzögerung der Sehpurpurregeneration<sup>1)</sup> ist unzulässig, denn das erste flache Stück der Weißkurve gehört noch zum Schwellenverlauf des Tagessehens, und dahinter bleibt der Anfangsverlauf des Dämmerungssehens verdeckt. Im Gegenteil zeigen die Versuche mit den für das Dämmerungssehen optimalen kurzwelligen Schwellenreizen bei normaler Adaptation überhaupt keine nachweisbare Anfangsverzögerung des Dämmerungssehens, denn die Blaukurve fällt auch nach hochgradiger Tageslichtadaptation (51 000 Lux) sofort steil ab. — Daß anomale Adaptationsstörungen mit erheblicher Anfangsverzögerung des Dämmerungssehens vorkommen, wovon in der nächsten Mitteilung die Rede sein wird, bleibt hiervon unberührt.

---

<sup>1)</sup> Literatur bei *G. E. Müller*, Zeitschr. f. Sinnesphysiol. **54**, 20 ff. 1922.

# Weitere Untersuchungen über den Dunkeladaptationsverlauf bei verschiedenen Farbensystemen und bei Adaptationsstörungen.

Von

G. Abelsdorff, W. Dieter und A. Kohlrausch.

(Aus der physikalischen und sinnesphysiologischen Abteilung des physiologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 20. Juli 1922.)

In der vorangehenden Mitteilung hat der eine von uns<sup>1)</sup> kurz über die Ergebnisse von Adaptationsversuchen berichtet, die er (normaler Trichromat) an sich selbst nach ausgiebiger Helladaptation mit farbigen Schwellen-Prüflichtern von möglichst verschiedenem Tages- und Dämmerungswertverhältnis angestellt hat. Wir haben dann weiter gemeinsam<sup>2)</sup> die Untersuchung auf Vertreter der verschiedenen Farbensysteme ausgedehnt.

Von Farbensystemen standen uns bisher 3 Protanopen<sup>3)</sup>, 2 Deuteranopen, 1 Rotanomaler und 2 Grünanomale zur Verfügung. Die Diagnose wurde mit den üblichen Tafelproben und am Anomaloskop und außerdem mit einer Reihe verschiedener Farbgleichungen am *Helmholtz*schen Farbenmischapparat sichergestellt. Alle Fälle erwiesen sich dabei als durchaus typisch, die 3 anomalen Trichromaten hatten eine Anomalie mittleren Grades und zeigten deutlich die bekannten mit Farbenschwäche bezeichneten Eigentümlichkeiten gegenüber kleinen, oder lichtschwachen, oder kurz dargebotenen farbigen Objekten, ferner den gesteigerten Kontrast. — Die Untersuchung der Dunkeladaptation wurde bei allen Versuchspersonen in derselben Weise mit der in der vorstehenden Mitteilung skizzierten Methodik durchgeführt, und zwar nach 10 Minuten langer konstanter Helladaptation, am *Pipers*chen Adaptometer mit einem kreisrunden Feld von 4° Durchmesser, dessen Mitte 10° senkrecht unter dem Fixierpunkt lag. Die benutzten Lichter waren das „Orange“, „Weiß“ und „Grün“; der Tages- und Dämmerungswert des „Orange“ und „Grün“ wurde für jeden Beobachter besonders in Mikrolux ( $\mu$ Lx) senkrecht auf Magnesiumoxyd bestimmt.

Unsere Ergebnisse stimmen insofern mit den Erfahrungen *Pipers*<sup>4)</sup> durchaus überein, als wir fanden, daß der zeitliche Verlauf der Dunkel-

<sup>1)</sup> *Arnt Kohlrausch*, *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **196**, 113. 1922.

<sup>2)</sup> Die ausführliche Veröffentlichung des Zahlen- und Kurvenmaterials erscheint demnächst.

<sup>3)</sup> Wir verwenden im folgenden die von *J. v. Kries* vorgeschlagene Nomenklatur.

<sup>4)</sup> *H. Piper*, *Zeitschr. f. Psychol. u. Physiol. d. Sinnesorg.* **31**, 191ff. 1903.

adaptation auf peripheren Netzhautstellen vollständig unabhängig von der Art des Farbensystems ist. Die Adaptationsgeschwindigkeit und -breite können bei Personen mit demselben Farbensystem je nach Lebensalter und individueller Eigentümlichkeit extrem verschieden sein. Darüber hinaus stellten wir auch bei diesen Versuchspersonen die Gültigkeit der am Normalen gefundenen Gesetzmäßigkeiten betreffs der Tages- und Dämmerungsäquivalenz der Schwellenwerte und der Lage des Kurvenknickes fest: bei extrafovealer Beobachtung waren die Schwellenwerte der drei Prüflichter im Anfang des Dunkelaufenthaltes sehr nahe tagesäquivalent für jeden Beobachter und wurden jenseits der Knickpunkte dämmerungsäquivalent. Diese Tatsachen gelten demnach allgemein und unabhängig sowohl von der Art des Farbensystems wie von den individuellen Eigentümlichkeiten des Adaptationsverlaufes.

Ferner haben *Abelsdorff* und *Kohlrausch* mit derselben Methodik zwei Fälle mit verzögerter Adaptation untersucht, von denen der eine normale, der andere außerdem etwas verminderte Adaptationsbreite (erhöhte Endschwellen) hatte<sup>1)</sup>. Sie stellten fest, daß die Verzögerung gegen die Norm am schwächsten oder gar nicht bei langwelligen, stärker bei Weiß und am stärksten bei kurzwelligen Prüflichtern in Erscheinung tritt. Bei „Grün“ war der Knickpunkt um 5 Minuten oder mehr gegen normal hinausgeschoben. Das wesentliche Ergebnis war dabei, daß die verschiedenen Schwellenkurven bis zu diesem verspäteten Knick *dieselbe schwache* Neigung hatten und auf *tagesäquivalenten Werten* zusammenlagen; nach dem Knick fiel dann die Kurve bei beiden Fällen erheblich steiler ab als beim Normalen, so daß die eine Versuchsperson mit normalen Endschwellen den Normalen nach kurzer Zeit eingeholt hatte. Mit anderen Worten: bei Fällen mit dieser Adaptationsstörung unterschreitet das Dämmerungssehen beträchtlich später als normal die Schwelle des Tagessehens, um dann nachträglich schneller als normal an Empfindlichkeit zuzunehmen. Über den Anfangsverlauf des Dämmerungssehens dieser Fälle bis zum Knick ist lediglich vermutungsweise aus dem späteren Kurvenverlauf etwas zu schließen; experimentell würde er sich nur festlegen lassen, wenn Lichter bekannt wären, die auch in beliebiger Intensität keinen Tageswert besitzen.

Besondere Eigentümlichkeiten, die von *Dieter* und *Kohlrausch* näher untersucht wurden, bot der Schwellenwertverlauf verschiedenfarbiger Lichter bei direkter Fixation eines Feldes von 1° Durchmesser, also in der Fovea. Es zeigte sich bei dem Normalen in häufig wiederholten Adaptationsversuchen, daß die Werte der generellen Schwellen für die verschiedenen Lichter  $\frac{1}{2}$  Minute nach Beginn des Dunkel-

<sup>1)</sup> Vgl. *K. Wessely*, Arch. f. Augenheilk. **81**, Ergänzungsheft, 5 ff.

aufenthaltes noch auf flimmeräquivalenten Werten zusammenlagen ( $85\,000 \mu \text{Lx} \pm 3\%$ ). Nach 1 Minute war bereits ein Divergieren der Kurven bemerklich, das bei weiterem Dunkelaufenthalt zunahm, so daß nach  $\frac{1}{2}$  Stunde Dunkelaufenthalt die Kurven z. T. beträchtlich auseinanderfielen. Bemerkenswert ist dabei das schließliche Lageverhältnis der Schwellenwerte, das mit dem Purkinjeschen Phänomen nicht das Mindeste zu tun hat: es lagen die Schwellenwerte der drei roten Lichter am niedrigsten ( $7000\text{--}8000 \mu \text{Lx}$ ), wenig höher „Orange“ und „Blau“ ( $8\text{--}9000 \mu \text{Lx}$ ), erheblich höher „Grün“ ( $16\,000 \mu \text{Lx}$ ) und am höchsten „Weiß“ [ $19\,000 \mu \text{Lx}$ ]<sup>1)</sup>. Mit anderen Worten: In der Fovea ( $1^\circ$  Feld) nahm während des Dunkelaufenthaltes die Empfindlichkeit für lang- und kurzwelliges Licht beträchtlich stärker zu, als für Licht mittlerer Wellenlänge und für unzerlegtes Weiß.

Diese Tatsache wird, wie Kontrollversuche lehrten, weder durch langdauernden Dunkelaufenthalt, noch durch ein zentrales, eben überschwelliges Fixierpünktchen und seine Farbe, noch durch die von tonfreiem Weiß abweichende Farbe der zur Helladaptation benutzten Fläche beeinflußt; denn die eben beschriebene Erscheinung blieb dieselbe, gleichgültig, ob der Dunkelaufenthalt  $\frac{1}{2}$  oder 4 Stunden fortgesetzt, ob an Stelle des roten ein gelblich- oder bläulichweißes oder gar kein Fixierpünktchen benutzt, oder ob die vorangehende Helladaptation mit gelblichem elektrischen Licht oder dem blauen Himmel erzielt wurde. Zum Überfluß ergaben Kontrollversuche mit einer künstlichen Pupille von 2 mm Durchmesser, daß dieser verschiedene Schwellenverlauf nicht durch eine etwaige Inkonzanz der Pupillenweite bedingt ist. Daß bei all den Versuchen die „Lokaladaptation“ durch dauernde Verwendung des Pendels hintangehalten wurde, ist selbstverständlich. — Zur sicheren Ausführung derartiger Schwellenbeobachtungen in der Fovea ( $1^\circ$  Feld) ist bekanntlich einige Übung erforderlich, da, wie v. Kries und Nagel<sup>2)</sup> gezeigt haben, eine geringe Blickschwankung (z. B. bis an den Rand unseres Feldes) genügt, um einen Teil des Feldes am gegenüberliegenden Rand infolge des Purkinjeschen Phänomens heller und weißlicher aufleuchten zu lassen, wenn das Licht einen merklichen Dämmerungswert hat (z. B. bei unseren Lichtern „Rot II“ bis „Blau“, nicht bei „Rot I“). Ebenso sieht man natürlich in Übereinstimmung mit Hering<sup>3)</sup> und anderen das Purkinje'sche Phänomen außerordentlich deutlich, wenn man wie er das Feld von  $1^\circ$  auf  $2,3^\circ$  Durchmesser vergrößert.

Da möglicherweise die Unreinheit der benutzten Lichter, besonders des blauen, von Einfluß auf die oben beschriebenen fovealen Schwellenverschiebungen sein konnte, haben wir (Dieter, grünanomaler und Kohlrausch, normaler Trichromat) diesen Befund an uns gegenseitig mit Spektrallichtern des Helmholtz'schen Farbenmischapparates im unwissentlichen Verfahren nachgeprüft. Zu dem Ende stellten wir für eine Reihe homogener Lichter auf direkt fixiertem Feld von  $1^\circ$  Durch-

<sup>1)</sup> Diese niedrigen absoluten Werte gelten für  $1^\circ$  Feld. Bei  $\frac{1}{3}^\circ$  Feld und „Weiß“ fanden wir in Übereinstimmung mit A. Pertz (Dissertat. Freiburg 1896) Werte um  $\frac{1}{30}$  Lux.

<sup>2)</sup> J. v. Kries und W. Nagel, Zeitschr. f. Psychol. u. Physiol. d. Sinnesorg. **23**, 173ff. 1900.

<sup>3)</sup> E. Hering, Arch. f. Ophthalmol. **90**, 1—12. 1915.



messer vergleichend fest: 1. bei Helladaptation und hellen Lichtern ihr Flimmerwertverhältnis zu einem konstant gehaltenen unzerlegten Weiß (Magnesiumoxyd von Nernstlampe beleuchtet); 2. unter denselben Bedingungen ihr Helligkeitsverhältnis bei direktem Vergleich mit demselben Weiß und 3. nach  $\frac{1}{2}$ - bis 2stündiger Dunkeladaptation und proportionaler Intensitätsminderung aller Lichter (Episkotister oder Okularnikol) ihr Schwellenwertverhältnis. Das Ergebnis bestätigte unseren obigen Befund und war folgendes:

Ein foveal auf Flimmeräquivalenz mit dem unzerlegten Weiß eingestelltes Spektrallicht aus der Gegend des Gelb (590, 570  $\mu\mu$ ) erscheint diesem 1. bei direktem Vergleich sehr nahe gleichhell und hat 2. nach Dunkeladaptation und proportionaler Intensitätsminderung der Lichter angenähert die gleiche foveale Schwelle wie das Weiß; es sah bei den Beobachtungen unter 1 und 2 vielleicht eben merklich heller aus, als das flimmeräquivalente Weiß, so daß eine Intensitätsreduktion gar nicht oder nur um wenige Prozent (bis 5%) erforderlich war. Dabei löste das Gelb nahe der Schwelle bei uns beiden in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von *König*<sup>1)</sup>, *v. Kries*<sup>2)</sup> u. a. keine Farbenempfindung aus, hatte also ein farbloses Interwall. — Je weiter man sich nun von der Gegend des Gelb nach den beiden Spektralen hin entfernt, um so größer wird der Unterschied zwischen der Flimmeräquivalenz einerseits und der bei direktem Vergleich und Schwelleneinstellung andererseits und zwar in dem Sinne, daß die auf Flimmeräquivalenz mit dem Weiß eingestellten Spektrallichter bei direktem Vergleich und an der Schwelle beträchtlich zu hell sind. Die Abweichungen liegen weit außerhalb aller Fehlermöglichkeiten, denn der normale Trichromat mußte die dem Weiß flimmeräquivalenten Lichter 670 und 480  $\mu\mu$  um 50% reduzieren, damit sie dem Weiß schwellenäquivalent wurden, der anomale etwas weniger, um 25–30%. Dabei traten für uns beide die lang- und kurzwelligen Lichter in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von *König*, *v. Kries* u. a. foveal gesättigt farbig über die Schwelle. — Die Abweichungen der Werte bei Helladaptation und direktem Vergleich von den Flimmerwerten gehen in demselben Sinne, scheinen jedoch nicht ganz so stark zu sein.

Analoge Bestimmungen der fovealen Endschwellen bei zwei sicher beobachtenden Dichromaten, einem Prot- und einem Deuteranopen, an *Pipers* Adaptometer mit unseren Lichtern „Rot II“, „Rot III“, „Grün“ und „Weiß“ zeigten dagegen *keine* merklichen Abweichungen der Schwellen- von der Flimmeräquivalenz der Lichter. Die Abweichungen betrugten nur wenige Prozent und gingen unregelmäßig nach oben und nach unten, waren also offenbar Beobachtungsfehler.

<sup>1)</sup> A. *König*, Gesammelte Abhandl. S. 354.

<sup>2)</sup> J. v. *Kries*, Zeitschr. f. Psychol. u. Physiol. d. Sinnesorg. **15**, 347. 1897.

Eine **Deutung** dieser Versuchsergebnisse ist verhältnismäßig einfach, zumal sie in sehr naher Beziehung zu anderweitig gemachten Beobachtungen stehen: *A. Mayer*<sup>1)</sup> untersuchte auf großem Feld die Änderungen der spezifischen (Farben-) Schwellen von Pigmentpapieren während der fortschreitenden Dunkeladaptation und stellte fest, daß die Kurven aller Farben in den ersten Minuten am steilsten, dann flacher und nach 10—15 Minuten nur noch wenig abfallen; dabei nahmen die Farbenschwellen bei Rot und Blau am stärksten, bei Gelb am wenigsten ab. *Boswell*<sup>2)</sup> fand, daß die fovealen Schwellenwerte spektraler Lichter vom Na-Licht aus gerechnet sowohl gegen das langwellige, wie gegen das kurzwellige Spektralende hin erheblich weniger steil absinken, als die Peripheriewerte und die Minimalfeldhelligkeiten. Am Farbenkreisel beobachtete *Schenck*<sup>3)</sup>, daß die Flimmerwerte von roten, orangefarbenen, blaugrünen, blauen und violetten Papieren niedriger waren, als ihre Helligkeiten bei direktem Vergleich mit Grau; die Differenz war am größten bei Rot, Blau und Violett. Er führt die Abweichungen auf Urteilstäuschungen bei der Methode des direkten Vergleichs zurück. — Nun gilt für die Flimmermethode mit weißem Licht oder Grau etwas ähnliches, wie für die farblosen Helligkeitsbestimmungen mit der Peripheriewert- und Minimalfeldmethode, nämlich daß infolge der starken Weißbeimischung das Feld, sobald das Flimmern aufhört, zwar nicht ganz farblos, aber doch sehr stark weißlich wird. Es dürfte infolgedessen auch auf unsere Beobachtungen die von *Boswell* gegebene Erklärung zutreffen, daß für die foveale schwellenmäßige Sichtbarkeit der farbige Reizerfolg der Lichter — ihre „farbigen Valenzen“ — außer ihrer farblosen Helligkeit mit in Betracht kommt.

Wir können daher die früheren und unsere Beobachtungen über diesen Gegenstand wohl allgemein folgendermaßen deuten: Die durch Lichter verschiedener Wellenlänge unter bestimmten Bedingungen allein ausgelösten farblosen Tageshelligkeiten werden durch das Hinzutreten der spezifischen Farbenempfindungen verstärkt. Diese Verstärkung ist nur eben merklich im Gelb, wächst gegen die beiden Spektralenden hin erheblich an und ist offenbar um so beträchtlicher, je gesättigter die Farbenempfindung ist. Daraus ergibt sich, daß die Erscheinung in der langwelligen Spektralhälfte des Prot- und Deuteranopen bis hin zum neutralen Punkt nicht merklich auftreten kann, da diese Lichter nach allem, was darüber bekannt ist, bei beiden Systemen nur mehr oder weniger gesättigte Gelbempfindungen auslösen. — Die Folge davon ist, daß die verschiedenen Methoden der heterochromen Photometrie für die spektrale Tageshelligkeitsverteilung eines Trichromaten *et. par.* nur in der Gegend des Gelb annähernd übereinstimmende, nach den Spektralenden hin kleinere oder größere Werte liefern müssen, je nachdem sie die Farbenempfindungen mehr oder weniger auslöschen. — Der gesamte Tatsachenkomplex kann wohl nur als „spezifische Helligkeit“ der Farbenempfindungen gedeutet werden, die aber im Gegensatz zu der bekannten *Hering-Hillebrandschen* Theorie lediglich verschieden stark *aufhellend* wirkt.

1) *A. Mayer*, Dissertation, Freiburg i. B. 1903.

2) *F. P. Boswell*, *Zeitschr. f. Sinnesphysiol.* **42**, 310ff. 1908.

3) *Fr. Schenck*, *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **64**, 618ff. und **68**, 43. 1896 und 1897.

# Die Wirkung von Kalebassen-Curare auf die Irisbewegung.

Von

Dr. med. Tomoichi Nakagawa aus Osaka, Japan.

(Aus der operativen Abteilung des physiologischen Institutes der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 24. Juli 1922.)

Als *Claude Bernard* und *Kölliker*<sup>1)</sup> (1856) in ihren klassischen Versuchen die Wirkung von Curare auf die quergestreifte Muskulatur genau erforscht hatten, war damit der wesentlichste Punkt der Frage nach der Wirkungsweise dieses Giftes aufgeklärt. Daß aber Curare in gewissen Dosen noch andere Organe in ihrer Tätigkeit mehr oder weniger beeinflussen kann, ist erst nach und nach bekannt geworden. Umstritten ist die Frage der Einwirkung von Curare auf das Auge.

Es war nämlich sowohl bei Fröschen als auch bei Säugetieren beobachtet worden, daß bei den curarisierten Tieren eine Mydriasis auftrat<sup>2)</sup>. *Zelenski* bezog sie auf eine „definitive Schwächung“ der Innervation des Oculomotorius<sup>3)</sup>. *G. Gianuzzi*<sup>4a)</sup> und *A. Vulpian*<sup>4b)</sup> fanden selbst bei starker Curarisierung an Säugetieren und Vögeln noch eine auf Lichteinfall reagierende Pupille. *Nikolski* und *Dogiel*<sup>5)</sup> reizten den Oculomotorius und fanden an curarisierten Hunden eine Verengung der Iris.

Eine Erklärung der bei einer Curarisierung auftretenden Pupillenerweiterung war durch diese Mitteilungen nicht gegeben.

Auf der operativen Abteilung des Institutes war bei Versuchen an curarisierten Katzen hin und wieder aufgefallen, daß die Tiere eine *weite reaktionslose Pupille* zeigten, wenn sie mit größeren Mengen curarisiert wurden als zur motorischen Lähmung im allgemeinen nötig

<sup>1)</sup> Siehe in *A. Heffters Handbuch der experimentellen Pharmakologie*, 2. 1. Heft. Abschnitt: Curare und Curarealkaloide von R. Boehm. Verlag Springer, Berlin 1920.

<sup>2)</sup> *F. Bidder*, Über die Unterschiede in den Beziehungen des Pfeilgiftes zu verschiedenen Abteilungen des Nervensystems. *Arch. f. Anat. u. Physiol.* Jahrg. 1865, S. 337.

<sup>3)</sup> *Zelenski*, Zur Frage der Muskelirritabilität. *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* 24, 363. 1862.

<sup>4a u. b)</sup> Zitiert nach *Heffters Handbuch* s. o.

<sup>5)</sup> *W. Nikolski* und *G. Dogiel*, Zur Lehre über die physiologische Wirkung des Curare. *Arch. f. d. ges. Physiol.* 47, 68. 1897.

gewesen wäre. Wurde einer solchen Katze, die zu anderen Versuchszwecken curarisiert worden war, nach vollständiger motorischer Lähmung — die Pupillen waren mittelweit und reagierten gut auf Licht — noch einmal dieselbe Curaremenge gegeben, so weiteten sich innerhalb weniger Minuten die Pupillen beiderseits und verengten sich nicht mehr auf Lichteinfall. Eine indirekte Wirkung auf die Pupillenweite durch zentral bedingte Reize, wie sie durch Sauerstoffmangel eintreten können, kommt deshalb nicht in Betracht, weil die Sauerstoffversorgung durch künstliche Atmung während des ganzen Versuches die gleiche geblieben war. Gefäßveränderungen beeinflussen die Pupillenweite nicht<sup>1)</sup>. Merkwürdig sichtbare Unterschiede der Arbeit des Herzens, die möglicherweise durch Wirkung auf das Atmungszentrum oder auf die zentralen Ursprungsstellen der die Pupille innervierenden Nerven die Pupillenweite bedingen könnten, waren nicht aufgefallen, werden auch in weiten Grenzen einflußlos bleiben.

Es lag hiernach nahe, der Frage von der Seite der Innervation der Pupillen näherzutreten, wie es ja auch schon die früheren Autoren zum Teil getan hatten.

Ich möchte hier nur noch bemerken, daß die Beantwortung der Frage nach der Wirkung von Curare auf Organe deshalb nicht ganz endgültig sein kann, weil die üblichen Curaresorten nicht chemisch einheitliche Körper sind. Da aber das Curare allgemein in den Laboratorien in dieser Zusammensetzung gebraucht wird, hat die Beantwortung der dieser Arbeit zugrunde liegenden Frage, so glaube ich, ein gewisses Interesse.

Ich machte im ganzen 14 Versuche an 9 Hunden und 5 Katzen. Es wurde eine 1 proz. filtrierte Curarelösung benutzt, die im allgemeinen den Tieren subcutan gegeben wurde. Katzen mit dem Gewicht von 2–3 kg spritzte ich meist 4 ccm ein, bei den Hunden war die Gabe vom Gewicht abhängig. So erhielt z. B. ein 8 kg schwerer Hund 10 ccm der Lösung. Bei der künstlichen Atmung achtete ich darauf, daß den Tieren bei jeder Einatmung ein genügend großes Luftquantum zugeführt wurde. Die Wirkung der Curaremenge auf die Pupillen trat im allgemeinen nach 10 Min. auf.

Die Freilegung des Ganglion ciliare, der Nervi ciliares breves und des Nervus oculomotorius geschah nach der Methode, die zuletzt von *Paul Schultz* angegeben worden ist<sup>2)</sup>. Bei einigen Tieren betupfte ich auch das Ganglion ciliare mit der Curarelösung, ohne sie vorher zu curarisieren. Zur Ruhigstellung des Tieres benutzte ich in diesen Fällen eine Chloroform-Äther-Narkose.

<sup>1)</sup> *J. N. Langley* und *H. K. Anderson*, On the Mechanism of the movements of the iris. Journ. of Physiol. **13**, 554. 1892.

<sup>2)</sup> *Paul Schultz*, Über die Wirkungsweise der Mydriaca und Miotica. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1898, S. 47.

Ich fand sehr oft, daß nach der Freilegung der soeben erwähnten Nerven die Pupille auf der operierten Seite ein wenig weiter war als auf der gesunden Seite, gleichgültig, ob die Tiere curarisiert oder mit Chloroformäther betäubt waren. Der Unterschied in der Weite betrug im allgemeinen 2 mm (8 statt 6 mm). Er geht innerhalb von 10 Min. zurück. Reizung der Nerven — Ciliares breves, Oculomotorius, Halssympathicus — geschah tetanisch mit dem *du Bois-Reymondschen* Schlittenapparat. Die elektromotorische Kraft lieferte ein Bleiakkumulator. Als Elektroden dienten mir zwei feine Platindrähte.

Ganz allgemein habe ich bei meinen Versuchstieren beobachtet, daß bei den von mir gegebenen Curaremengen, die ja größer waren, als zu einer motorischen Lähmung nötig ist, entweder Mydriasis oder Miosis bei lichtstarrten Pupillen auf beiden Augen eintreten. Reizte man bei denjenigen Tieren, die bei fehlender Pupillenreaktion eine Mydriasis haben, die kurzen Ciliarnerven (Rollabstand 20 cm, auf der Zunge gerade fühlbar), so tritt wie beim normalen Tier prompt Verengung ein. Reizung des Oculomotoriusstammes dagegen hat nur dann eine Wirkung, wenn die Ströme sehr verstärkt wurden, so daß die Vermutung von Stromschleifen auf die in der Nähe liegenden kurzen Ciliarnerven begründet erscheint. Bei Reizung des Halssympathicus tritt eine Erweiterung sofort ein. Aus den Versuchen ist also zu ersehen, daß tiefe Curarisierung die Wirkung einer Reizung des Oculomotorius, bei der normalerweise Verengung der Pupille erfolgt, aufhebt, während Reizung der kurzen Ciliarnerven, die ja die postganglionären Fasern der im Oculomotorius verlaufenden parasymphatischen Nervenbahn enthalten, wirksam bleibt. Zwischen den Ciliarnerven, die die postganglionären Fasern führen, und dem Oculomotorius, der die präganglionären parasymphatischen Fasern enthält, liegt das Ganglion ciliare.

Es liegt nahe, aus den Versuchen zu schließen, daß eine größere Dosis Curare eine Parese des Ganglion ciliare oder der präganglionären Fasern bewirkt. Dies würde mit der Feststellung, die *Langley* in seinem Buche „The autonomic nervous system“ (1921, Verlag W. Heffer and sons, Cambridge) für das Curare allgemein ausgesprochen hat, übereinstimmen, daß nämlich „curari paralyzes efferent nerves leaving the spinal cord; it paralyzes first somatic motor nerves, the phrenic being paralysed somewhat later than the nerves supplying the skeletal muscles, it then paralyzes preganglionic fibres and in mammals it has little or no paralyzing action on postganglionic fibres“. Nach meinen Versuchen kann man die Vermutung aussprechen, daß die Nervenendigungen der präganglionären parasymphatischen Fasern, die ja im Ganglion ciliare endigen, durch die große Curaremenge paretisch geworden sind. Bis zu einem gewissen Grade wird die Annahme durch folgenden Versuch sichergestellt: In Chloroform-Äthernarkose legte ich das Ganglion und

die in Betracht kommenden Nerven frei. Dann reizte ich die kurzen Ciliarnerven und den Oculomotorius und sah eine Verengung der Pupille. Zur Reizung beider Nerven sind fast die gleichen Stromstärken notwendig. Betupfe ich jetzt das Ganglion mit der Curarelösung, so tritt der schon bei der allgemeinen tiefen Curarisierung von mir beobachtete Effekt ein, daß eine Mydriasis zustande kommt, und Reizung der Ciliarnerven eine prompte Verengung ergibt, aber Reizung des Oculomotorius kaum oder nur gering im Sinne einer Verengung wirkt. Wäscht man aber das Curare mit physiologischer NaCl-Lösung heraus, so wird die Pupille wieder enger. Man kann jetzt denselben Versuch mit der Betupfung wiederholen. Hiermit ist, denke ich, die bei tiefer Curarisierung auftretende Pupillenerweiterung erklärt, daß nämlich Curare in größeren Dosen, als zur motorischen Lähmung notwendig sind, den Durchgang der Erregung durch das Ganglion ciliare hindert oder wenigstens sehr erschwert. Über den Mechanismus dieser Hemmung kann man nach den vorliegenden Versuchen noch nichts aussagen.

Über die bei tiefer Curarisierung ebenfalls vorkommende Miosis werde ich später ausführlich berichten.

Herrn Privatdozenten Dr. *Schiff*, Assistenten am Institut, danke ich für die Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit.

#### Nachtrag.

Nach Fertigstellung des Korrekturbogens bin ich von Herrn Prof. *Langley* in Cambridge durch Vermittlung von Herrn Dr. *Schiff* darauf aufmerksam gemacht worden, daß Herr Prof. *Langley* im Jahre 1892 gelegentlich des Studiums der Nikotinwirkung auf das Ciliarganglion<sup>1)</sup> auch mit Curare Versuche angestellt hat. Ich kannte die Arbeit, hatte aber die kurze Bemerkung über die Curarewirkung — sie steht in kleinem Druck auf S. 492 — übersehen. *Langley* hatte nach Curarisierung den Oculomotoriusast gereizt und die Reizung unwirksam gefunden. Es trat keine Verengung der Iris ein. Ich habe also in vorliegender Arbeit die Versuche von *Langley* bestätigt, erweitert und sichergestellt, daß Curare in größerer Dosis das Ganglion ciliare lähmt.

<sup>1)</sup> *J. N. Langley and H. K. Anderson*. The action of nicotin on the ciliary ganglion and on the endings of the third cranial nerve. *Journal of Physiol.* **13**, 460. 1892.







# Beiträge zur biologischen Bedeutung der innersekretorischen Organe<sup>1)</sup>.

I. Mitteilung.

## Schilddrüse und Metamorphose.

Von

Prof. Dr. C. Hart, Berlin-Schöneberg.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. März 1922.)

In einer ganzen Anzahl von Arbeiten, die sich mit dem Konstitutionsproblem und seinen Beziehungen zur inneren Sekretion beschäftigen, habe ich, zum Teil schon vor Jahren, von meinen Versuchen berichtet, durch Schilddrüsenfütterung den Axolotl zur Metamorphose zu bringen. Angeregt worden war ich dazu durch die bekannten und nunmehr vielfach mit stets gleichem Erfolge wiederholten Untersuchungen *Gudernatschs*<sup>2)</sup> über die Wirkung als Nahrung verabreichter endokriner Organe auf Wachstum und Metamorphose der Kaulquappen. Ihr wesentliches Ergebnis bestand in der Feststellung, daß Thymusfütterung das Wachstum mächtig anregt unter Verzögerung oder Hemmung der Metamorphose, während die Schilddrüsenfütterung umgekehrt die Metamorphose beschleunigt und überstürzt bei nahezu völligem Stillstand des Wachstums. Im einen Falle also entstanden Riesenkaulquappen mit nur spät einsetzender und in den ersten Anfängen steckenbleibender Metamorphose, im anderen hingegen Zwergfröschen.

<sup>1)</sup> *Roux* hat für die inneren Sekrete die Bezeichnung „Inkrete“, der „Inkretion“ und „inkretorische Organe“ entsprechen, eingeführt. Im Gegensatz zu Forschern wie *Abderhalden*, *Weil* u. a. haben die pathologischen Anatomen an den alten Ausdrücken festgehalten, da sie seit langem unter Inkreten etwas ganz anderes verstehen und der von *Roux* vorgeschlagene Ausdruck für sie also schon vergeben ist. Ich verweise auf den kleinen Aufsatz *R. Benekes*, „Sekrete, Exkrete und „Inkrete“ (*Roux*)“ im Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **31**, Nr. 5, S. 114. 1920/21.

<sup>2)</sup> *Gudernatsch*, Fütterungsversuche an Kaulquappen. Zentralbl. f. Physiol. **26**, Nr. 7. 1912. — Feeding experiments on tadpoles. I. The influence of specific organs given as food on growth and differentiation. A contribution to the knowledge of organ with internal secretion. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **35**. 1912.

Merkwürdigerweise haben diese wichtigen Fütterungsversuche *Gudernatschs* nicht entfernt die Beachtung gefunden, die ihnen in biologischer Hinsicht zukommt, was übrigens auch von *Adlers* bemerkenswerten Exstirpationsversuchen endokriner Organe bei Kaulquappen gilt. Zwar sind *Gudernatschs* Versuche wiederholt und ausgebaut worden, so besonders von *Romeis*<sup>1)</sup>, der namentlich auch die Beeinflussung der Regenerationsvorgänge in den Bereich der Betrachtung gezogen und neuerdings für die menschliche Konstitutionspathologie wichtige Beobachtungen über den Einfluß der Thymusfütterung auf Kümmerformen<sup>2)</sup> veröffentlicht hat, so ferner von *Abderhalden*<sup>3)</sup>, der vor allem die spezifisch wirkenden Substanzen der innersekretorischen Organe bzw. ihres Sekretes zu ermitteln trachtete, aber wenn auch alle diese Versuche, die einzeln hier nicht aufgezählt werden sollen, manches bemerkenswerte Ergebnis gezeitigt haben, so liegen sie doch nicht in der Richtung, die für die Biologie durch *Gudernatschs* Mitteilung in erster Linie gewiesen war.

Man hätte erwarten sollen, daß die Frage der Neotenie der Amphibien insbesondere sofort an der Hand der neugewonnenen Erfahrung einer sehr eingehenden Untersuchung und Erörterung unterzogen worden wäre. Aus der Tatsache, daß partielle Neotenie nicht selten in der freien Natur vorkommt, daß man wenigstens bei manchen Perennibranchiaten von einer erblichen Fixierung eines ursprünglich vorübergehenden neotenischen Zustandes wird reden können, daß ferner die Metamorphose nicht nur als ein ontogenetischer sondern auch als ein phylogenetischer Vorgang von großer Bedeutung ins Auge zu fassen ist, ergibt sich ohne weiteres, daß Untersuchungen über die Beziehungen der endokrinen Organe zur Metamorphose und ihren Störungen wohl zu wichtigen Aufschlüssen führen können. Einzig aber *Babák*<sup>4)</sup> hat, wenn ich die Literatur recht übersehe, diese Folgerung aus *Gudernatschs* Untersuchungsergebnissen gezogen und durch seinen Schüler *Laufberger*<sup>5)</sup> Fütterungsversuche mit Schilddrüsensub-

<sup>1)</sup> *Romeis*, Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung innersekretorischer Organe V. Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **6**, 101. 1918. Diese große Arbeit enthält die Angaben über *Romeis'* frühere Aufsätze.

<sup>2)</sup> *Romeis*, Experimentelle Studien zur Konstitutionslehre. I. Die Beeinflussung minder veranlagter, schwächerer Tiere durch Thymusfütterung. Münch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 14, S. 420.

<sup>3)</sup> *Abderhalden*, Studien über die von einzelnen Organen hervorgebrachten Substanzen mit spezifischer Wirkung. I. Verbindungen, die einen Einfluß auf die Entwicklung und den Zustand bestimmter Gewebe ausüben. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **162**, 99. 1915.

<sup>4)</sup> *Babák*, Einige Gedanken über die Beziehung der Metamorphose bei den Amphibien zur inneren Sekretion. Zentralbl. f. Physiol. **27**, Nr. 10, S. 536. 1913.

<sup>5)</sup> *Laufberger*, O vzbuzeni metamorfósy axolotlu krmenim zlazon stitnou. Biol. Listy 1913.

stanz am *Siredon pisciformis* anstellen lassen, die bereits — leider in tschechischer Sprache — ausführlicher beschrieben worden sind. Ich selbst habe meine unabhängig von *Babák* und *Laufberger* begonnenen sehr umfangreichen Versuche gleicher Art bisher immer nur gelegentlich und kurz erwähnt. Da sie inzwischen Ausgang weiterer Betrachtungen und Versuche geworden sind, soll jetzt etwas eingehender von ihnen die Rede sein.

Schon *Babák* hat auf einige wichtige Ausblicke hingewiesen. Man könnte die vielen Fälle von Neotenie im Hinblick auf das Verhalten des endokrinen Systems untersuchen, andererseits auch jene höchst merkwürdigen Fälle einer stark abgekürzten Metamorphose, in der Erwartung, für beide Erscheinungen eine gesetzmäßige kausale Erklärung zu finden. Auch ließen sich vielleicht dieser Art systematische morphologische Charaktere einer biologischen Prüfung unterziehen und gleiche Zustände wie bei den Perennibranchiaten dabei in verschiedener Weise deuten. Vor allem aber bestände vielleicht die Möglichkeit, über an sich gewiß sehr beachtenswerte Ergebnisse rein morphologischer Untersuchungen hinaus zu einem tieferen Verständnis auch phylogenetischer Vorgänge zu gelangen. „Würde es gelingen, durch Hormone einige Proteiden oder Sireniden zur Umwandlung in nie vom menschlichen Auge gesehene landlebende metamorphosierte Formen zu zwingen, so würde da ein früher undenkbarer Schritt zur experimentellen Erforschung der phylogenetischen Entwicklung getan.“ So schreibt *Babák*. Will man aber derartige Versuche in großzügiger Weise in Angriff nehmen, dann gilt es eine ganze Reihe von Einzelfragen zu beantworten, die unbedingt den notwendigerweise sich einstellenden rein theoretischen Vorstellungen eine der exakten Forschung zugängliche Grundlage geben müssen.

Die Untersuchungen *Gudernatschs* und der meisten späteren Forscher gehen über die Frage der Bedeutung endokriner Wirkungen für die Ontogenese nicht hinaus. Ihr Wert liegt besonders darin, an einem für gewisse Beobachtungen besonders geeigneten, weil namentlich schon auf frühester Entwicklungsstufe vom mütterlichen Organismus unabhängigen, Versuchstier in sehr sinnenfälliger Weise gezeigt zu haben, daß die in der Substanz endokriner Organe vorhandenen spezifisch wirksamen, aber bekanntlich artunspezifischen Stoffe durch die Verdauungssäfte nicht zerstört werden, daß ferner die spezifische Wirkung der einzelnen endokrinen Organe in der Ontogenese eine sehr verschiedene ist, was aber nach dem Ergebnis aller bisher angestellten Untersuchungen nur für Thymus und Schilddrüse deutlich hervortritt, daß endlich eine einseitige starke Betonung einer bestimmten endokrinen Funktion zu einer Störung der individuellen Entwicklung führt und pathologische Formen schafft. Dies alles aber haben

wir im Grunde auch schon vorher gewußt. Aus den Erfahrungen der menschlichen Pathologie, ergänzt durch die des Tierexperimentes, kennen wir längst die ungeheure Bedeutung des ganzen endokrinen Systems für die Ontogenese, die seines harmonischen Zusammenarbeitens für die Bildung physiologischer, art- und rassegemäßer Einzelformen und für den normalen Ablauf ihrer Lebensfunktionen. Und wenn auch noch viele Rätsel zu lösen sind, so sind wir doch allmählich auch zu ziemlich klaren Vorstellungen über die Einzelaufgaben der verschiedenen endokrinen Organe gekommen und kennen die Störungen, die sich aus ihrem Ausfall, ihrer Unter-, Über- und Mißfunktion ergeben, wenigstens teilweise, sehr gut. Die eine planmäßige Organotherapie einleitende Verabreichung von Schilddrüsensubstanz mit der Nahrung mußte schon von der Voraussetzung ausgehen, die wirksamen endokrinen Stoffe vermöchten sich vom Magen-Darm aus, unverändert durch die Verdauungssäfte, geltend zu machen. *Gudernatschs* Versuche haben also nur einen besonders deutlichen Beweis für die Richtigkeit dieser Vorstellung erbracht, die übrigens betont zu werden verdient im Hinblick auf die phylogenetische Entwicklung der Schilddrüse und der Hypophyse. Namentlich hinsichtlich ersterer wird von *Wiedersheim*<sup>1)</sup> und unter Hinweis auf ihn immer wieder auch von anderen Autoren wie z. B. *Kraus*<sup>2)</sup> auf den phylogenetischen Funktionswechsel des Organs hingewiesen, zum Ausdruck kommend in dem Verlust des Ausführungsganges und damit der Umwandlung des Organs zu einer reinen „Blutdrüse“. Die spezifische wirksame Substanz des Schilddrüsensekretes braucht aber dabei eine Änderung nicht erfahren zu haben, sie läßt sich vom Darm aus ebenso wirksam denken wie bei ihrem unmittelbaren Übertritt in das Blut, der freilich ökonomischer sein dürfte. Dann läßt sich aber nur in rein anatomischer Hinsicht von einem Funktionswechsel sprechen.

Das scheinbar so klare, eindeutige Ergebnis der Fütterungsversuche an Kaulquappen birgt in Wahrheit eine ganze Reihe wichtiger Fragestellungen in sich. Die Wirkung der endokrinen Substanzen bedarf noch immer fast in jeder Hinsicht einer genauen Analyse. Die eine wichtige Frage ist die, welcher Natur die wirksamen Stoffe sind. Sie hat *Abderhalden* zu beantworten versucht, indem er die einzelnen endokrinen Organe mittels Fermenten stufenweise abbaute und feststellte, bei welcher Abbaustufe bestimmte charakteristische Wirkungen verschwinden. Er hatte dabei die richtige Vorstellung, daß von einem und demselben Organ verschiedene Wirkungen ausgehen können,

<sup>1)</sup> *Wiedersheim*, Der Bau des Menschen als Zeugnis für seine Vergangenheit. 4. Aufl. Laupp, Tübingen 1908.

<sup>2)</sup> *Kraus*, Die allgemeine und spezielle Pathologie der Person. Klinische Syzygiologie. Allgemeiner Teil. Thieme, Leipzig 1919.

die möglicherweise einzeln bei stufenweisem Abbau verloren gehen und dadurch in ihrer biochemischen Gebundenheit deutlich erkannt werden können. Auf das Ergebnis dieser Untersuchungen soll hier nicht näher eingegangen werden, nur sei bemerkt, daß die Wirkung der Schilddrüsensubstanz nach *Abderhaldens*, von *Romeis* bestätigten Feststellungen nicht an das unversehrte Eiweißmolekül gebunden ist, also nur tiefere Abbauprodukte von Proteinen oder bestimmte ihrer Bausteine in Frage kommen.

Eine zweite wesentliche Frage ist die, wie die wirksamen Stoffe verfütterter endokriner Organe zur Geltung kommen. Wirken sie unmittelbar nach ihrer Resorption aus dem Darm spezifisch oder durch Vermittlung des gleichen oder eines anderen endokrinen Organes oder in welcher Weise sonst? Das Ergebnis der Versuche *Gudernatschs* klingt höchst einfach und ist auch immer so hingestellt worden: Der Thymus regt das Wachstum mächtig an unter Hemmung der Metamorphose, die Schilddrüse umgekehrt aber überstürzt die letztere unter fast völligem Stillstand des Wachstums. Kommen hierin nur einfache Wirkungen zum Ausdruck, derart, daß der hormonale Reiz nur eine biologische Funktion beeinflußt, deren lebhaftere Steigerung die Energien des Organismus mehr oder weniger ganz in Anspruch nimmt und damit andere Funktionen hemmt? Sicherlich bestehen derartige Wechselbeziehungen zwischen Wachstum und Metamorphose, wie sie beispielsweise in *Barfurths*<sup>1)</sup> Vorstellungen über die Erscheinungen während der Metamorphose eine Rolle spielen, aber sie brauchen nicht allein das Ergebnis jener Versuche zu erklären.

Der Thymus ist ein Organ des Wachstums, seine Funktion fördert die einfache Massenzunahme des Organismus, ohne daß sich darin seine physiologische Aufgabe zu erschöpfen braucht. Wie ich<sup>2)</sup> früher näher ausgeführt habe, darf man auch dem menschlichen Thymus diese wachstumfördernde Funktion in erster Linie zuerkennen. Ganz neuerdings gibt *Demel*<sup>3)</sup> an, durch künstliche Hyperthymisation bei jungen Ratten eine auffällige Steigerung des Wachstums erzielt zu haben. Im Übrigen habe ich das Ergebnis der Versuche *Gudernatschs* erhärtet, indem ich das umgekehrte Verfahren einschlug. Kleinen dunklen Axolotln eines Laiches wurde teils ein-, teils zweizeitig der Thymus ausgebrannt in der Art, wie *Adler*<sup>4)</sup> die Exstirpation endokriner Organe

<sup>1)</sup> *Barfurth*, Der Hunger als förderndes Prinzip in der Natur. Arch. f. mikroskop. Anat. **29**. 1887.

<sup>2)</sup> *Hart*, Über die Funktion der Thymusdrüse. Jahrb. f. Kinderheilk. **86**. 1917.

<sup>3)</sup> *Demel*, Beobachtungen über die Folgen der Hyperthymisation. Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chirurg. **34**, 4. 1922.

<sup>4)</sup> *Adler*, Metamorphosenstudien an Batrachierlarven. I. Exstirpation endokriner Drüsen. A. Hypophyse. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen. **39**, 1. 1914. — B. Thymus. C. Epiphyse. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **40**, 1. 1914.

an Kaulquappen vorgenommen hat, während die gleichentwickelten weißen Tiere desselben Laiches als Kontrollen dienten. Soweit die thymuslosen Tiere am Leben blieben, zeigten sie eine hochgradige Hemmung des Wachstums, wie aus der beigegebenen Abbildung (Abb. 1) deutlich zu erkennen ist. Daß der Thymus restlos zerstört worden war, was bei seiner oberflächlichen und sehr leicht bestimm- baren Lage nicht schwer ist, wurde durch die mikroskopische Unter- suchung sichergestellt. Inzwischen hat *Romeis* (a. a. O.) die wach- tumfördernde Wirkung des Thymus, wie sie sich übrigens auch bei einfachen Regenerationsvorgängen geltend macht, weiterhin bewiesen,



Abb. 1. Vier junge dunkle Axolotl, die nach Exstirpation des Thymus stark im Wachstum zurückgeblieben sind. Daneben ein dem gleichen Laich entstammendes weißes Kontrolltier mit normaler Entwicklung.

indem er kümmernde Individuen einer Kaulquappenpopulation durch Thymusfütterung im Wachstum so sehr fördern konnte, daß sie die normal entwickelten Kaulquappen nicht nur schnell einholten, sondern teilweise sogar an Größe übertrafen. Im Hinblick auf das nicht seltene Vorkommen von Kümmerformen auch in der freien Natur, bei deren Entstehung durchaus nicht allein Nahrungsmangel eine Rolle spielt<sup>1)</sup>, ist diese Beobachtung nicht minder interessant wie namentlich für die Frage der Neotenie der Tiere und des menschlichen Infantilismus, zwischen denen ich<sup>2)</sup> schon vor Jahren eine Parallele zu ziehen ver- sucht habe. Zwar verwahre ich mich ausdrücklich gegen eine Gleich- deutung von Kümmerum und Neotenie bzw. Infantilismus, aber in

<sup>1)</sup> Siehe *Kammerer*, Das Beibehalten jugendlich unreifer Formzustände (Neotenie und Progenese). *Ergebn. d. wissensch. Med.* Jahrg. 1, S. 10. 1909/10.

<sup>2)</sup> *Hart*, Neotenie und Infantilismus. *Berl. klin. Wochenschr.* 1918, Nr. 26.

beiden Fällen bestehen offenbar Störungen der endokrinen Funktionen, die dennoch eine Betrachtung unter einheitlichem Gesichtspunkte ermöglichen <sup>1)</sup>.

Nun finden sich aber gerade bei den mit Thymus gefütterten Kaulquappen zuweilen sehr ausgesprochen, meist aber weniger auffallend, aber doch deutlich genug Erscheinungen, die auf verwickeltere Wirkungen hinweisen. Sie bestehen darin, daß infolge größeren Wassergehaltes der Gewebe die Tiere aufquellen, manchmal in einem solchen Maße, daß der Körper fast Kugelform mit durchscheinender Peripherie annimmt. Diese Aufquellung darf man nicht unter dem Eindruck reiner Wachstumssteigerung, der Massenzunahme an Zellen, übersehen.

Schon bei meinen ersten Versuchen unmittelbar nach Bekanntwerden der Arbeit *Gudernatschs* fielen mir diese Tiere auf, die ich scherzhaft „Myxödemquappen“ nannte, ohne zu ahnen, wie richtig tatsächlich diese Bezeichnung war. Inzwischen hat namentlich auch *Abderhalden* (a. a. O.) die Gewebsquellung bei manchen Thymuskaulquappen beobachtet und die Frage aufgeworfen, ob das eine primäre Folge der Einwirkung der Thymussubstanz oder eine sekundäre sei. Er hält es für fraglich, ob die Annahme einer Entwicklungshemmung den Kernpunkt der Wirkung der spezifischen Thymusstoffe trifft. Untersucht man nun die endokrinen Organe solcher wasserreichen Tiere mikroskopisch, so ergibt sich die höchst bemerkenswerte Feststellung, daß die Schilddrüse deutliche Störungen bis zu völligem Schwunde des Kolloides und schwerer Degeneration der Follikel epithelien aufweist, über die ich <sup>2)</sup> bereits früher berichtet habe. Die hier beigefügten Abbildungen 2—4

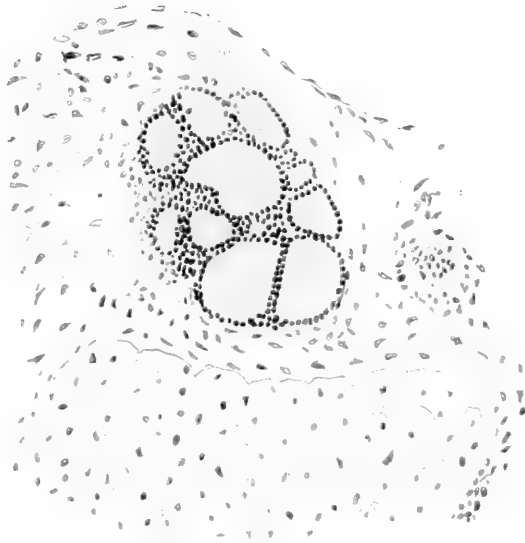


Abb. 2. Normale Kaulquappenschilddrüse.

beobachtet und die Frage aufgeworfen, ob das eine primäre Folge der Einwirkung der Thymussubstanz oder eine sekundäre sei. Er hält es für fraglich, ob die Annahme einer Entwicklungshemmung den Kernpunkt der Wirkung der spezifischen Thymusstoffe trifft. Untersucht man nun die endokrinen Organe solcher wasserreichen Tiere mikroskopisch, so ergibt sich die höchst bemerkenswerte Feststellung, daß die Schilddrüse deutliche Störungen bis zu völligem Schwunde des Kolloides und schwerer Degeneration der Follikel epithelien aufweist, über die ich <sup>2)</sup> bereits früher berichtet habe. Die hier beigefügten Abbildungen 2—4

<sup>1)</sup> *Hart*, Konstitution und Disposition. Lubarsch-Ostertags Ergebn. d. allg. Path. u. path. Anat. 20. 1. S. 1. 1922.

<sup>2)</sup> *Hart*, Zum Wesen und Wirken endokriner Drüsen. Berl. klin. Wochenschr. 1920, Nr. 5, S. 101.

lassen die Veränderung deutlich erkennen und rechtfertigen gewiß die Annahme, die Quellung des Gewebes sei ähnlich wie beim menschlichen Myxödem durch eine Unterfunktion der Schilddrüse bedingt. Zugleich geht aber wohl aus diesem mikroskopischen Befunde hervor, daß die Hemmung der Metamorphose bei mit Thymus gefütterten Kaulquappen keineswegs nur durch den Energieverbrauch infolge der Steigerung der reinen Massenzunahme bedingt zu sein braucht, sondern durch eine gleichzeitige Hemmung der Schilddrüsenfunktion — diese zunächst einmal ins Auge gefaßt —, wenn das auch morphologisch vielleicht nicht immer

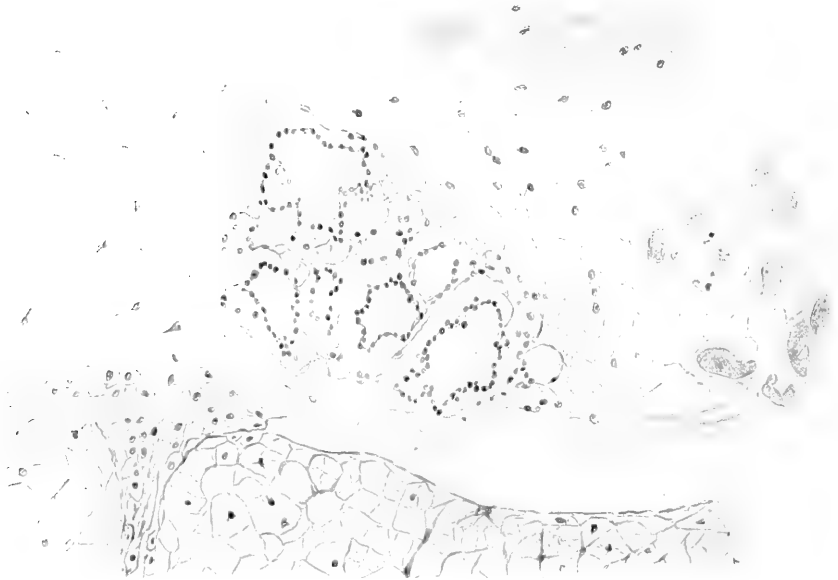


Abb. 3. Atrophie der Schilddrüse einer mit Thymus gefütterten Kaulquappe. Die Follikel sind welk und enthalten kein Kolloid.

deutlich oder gar nicht erkannt werden kann. Denn morphologisch können wir an den endokrinen Organen nur schwerere Grade der Funktionsstörung feststellen und ich habe oftmals schon in meinen Arbeiten betont, wie wenig es uns mit dem Mikroskop möglich ist, den feinen Schwankungen der funktionellen Einstellung endokriner Organe zu folgen, wie sie sich immerfort abspielen.

Überraschen kann die Feststellung von Schilddrüsenveränderungen bei Thymusfütterung in keiner Weise, im Gegenteil durfte man von vornherein mit etwas derartigem rechnen. Ist es doch ein biologisches Gesetz, nicht allein aus Erfahrungen der menschlichen Pathologie, sondern auch aus denen des Tierversuches abgeleitet, daß jede Um-



stimmung und Störung eines einzelnen endokrinen Organes sich am ganzen System geltend macht und in entsprechenden morphologischen und funktionellen Änderungen der einzelnen Teile zum Ausdruck kommt. Hierauf beruht das physiologische Wechselspiel der ständig schwankenden Konstellation im endokrinen System, sein harmonisches Ineinandearbeiten, dem Harmonie in Gestaltung und Lebensäußerungen des Organismus entspricht, hierauf auch der pluriglanduläre Charakter pathologischer Zustände, die man wie beim Morbus Basedowi fälschlicherweise bis vor kurzem noch auf eine ausschließ-

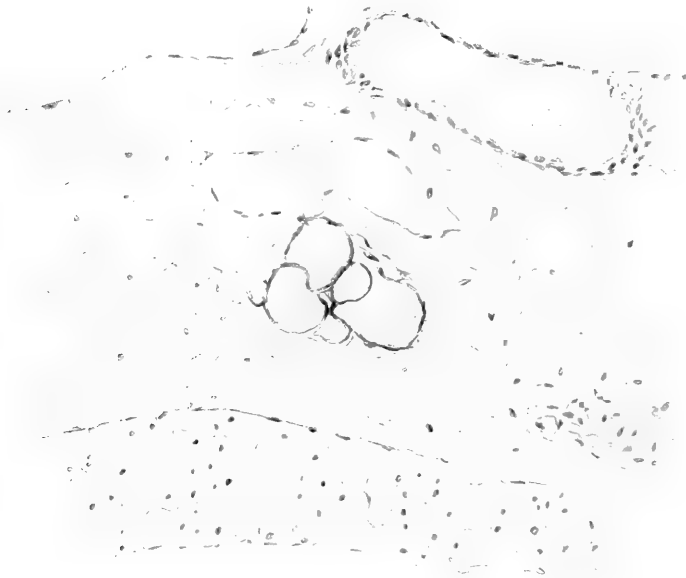


Abb. 4. Hochgradige Atrophie der Schilddrüse einer mit Thymus gefütterten Kaulquappe.

liche Erkrankung eines einzigen endokrinen Organes zurückgeführt hat. Was insbesondere die Versuche an Kaulquappen anbelangt, so verweise ich auf die von *Adler* (a. a. O.) erhobenen Befunde, die namentlich Veränderungen der Schilddrüse nach Exstirpation anderer endokriner Organe betreffen.

Es ergibt sich somit die unbedingte Notwendigkeit einer freilich ziemlich mühseligen eingehenden mikroskopischen Untersuchung *aller* endokrinen Organe bei den uns beschäftigenden Versuchen. Nicht dann erst allein, wie *Abderhalden* (a. a. O.) schreibt, wird die Erforschung der endokrinen Funktionen eine sichere Grundlage erhalten, wenn die einzelnen wirksamen Stoffe isoliert und ihre Wirkung festgestellt werden kann, sondern diese Wirkung bedarf noch zweitens

einer besonders sorgfältigen Untersuchung im Hinblick auf den Weg, den sie über das endokrine System nimmt, auf ihren mittelbaren und unmittelbaren Charakter. Wie ich glaube, kann hier das Mikroskop noch gute Arbeit leisten, ehe wir die chemische Konstitution der wirk-samen endokrinen Stoffe gefunden haben. Es ist aber die Beurteilung der mikroskopischen Befunde großenteils eine recht schwierige. Denn wie ich selbst gesehen habe, handelt es sich großenteils nur um Größen-unterschiede, deren Wert besonders deshalb schwer abzuschätzen ist, weil einmal Größe und Funktion eines Organes bekanntlich keineswegs einander parallel zu gehen brauchen und weil zweitens das Verhalten der einzelnen Tiere im Versuch ziemlich verschieden sein kann. Gerade letztere Beobachtung läßt sich immer wieder machen und mahnt zur Vorsicht im Urteil.

Was nun die Versuche mit Schilddrüsenfütterung anbelangt, so kommt ihnen deshalb eine besonders große Bedeutung zu, weil sie den Blick über die Ontogenese hinaus auf die Phylogenese zu lenken geeignet sind. Die Metamorphose stellt ja nicht nur eine einschneidende Entwicklungsphase im Individualleben vieler Tiere dar, die sich jahraus, jahrein immer wieder in gesetzmäßiger Weise abspielt und abspielen muß, wenn sie ihre fortpflanzungsfähige Reifeform erlangen sollen, so daß es sich also um einen artgemäßen, erblich vorausbestimmten und festgelegten Vorgang handelt, sondern auch in der Phylogenese bedeutet es ein Ereignis von allergrößter Wichtigkeit, insofern es der Weiterentwicklung der Arten gedient hat, dem Übergang gewisser kiemenatmender Wassertiere zur Lungenatmung und zum Landleben. Am schönsten zeigt uns der Axolotl unserer Aquarien (*Siredon pisciformis*) die Form, aus der sich die Molche weiterentwickelt haben. Ist er doch die neotenische und dennoch fortpflanzungsfähige Form der Molches *Amblystoma*, die sich aus irgendwelchen Gründen einmal erhalten hat und dann erblich fixiert worden ist. Zwar wissen wir, daß auch diese „totale“ Neotenie keine völlig starre, unwandelbare ist, da bekanntlich zuerst *Dumeril*<sup>1)</sup>, dann vor allem in jahrelangen Versuchen M. v. *Chauwin*<sup>2)</sup> und nach ihr manchem anderen Forscher die Umwandlung der neotenischen Jugendform in die Molchform gelungen ist, aber das war immer mit viel Schwierigkeiten verbunden, von mancherlei Zufälligkeiten abhängig, in recht

1) *Dumeril*, Observations sur la reproduction dans la ménagerie des reptiles du muséum d'histoire naturelle des Axolotls batraciens urodèles à branchies extérieures du Mexique sur leur développement et sur leurs métamorphoses. Nouv. arch. du muséum d'hist. nat. I. 2 Paris 1866.

2) *Marie v. Chauwin*, Über die Verwandlung des mexikanischen Axolotls in *Amblystoma*. Zeitschr. f. wissensch. Zool. 25 Suppl. 1875 und 27. 1876. — Über die Verwandlungsfähigkeit des mexikanischen Axolotls. Zeitschr. f. wissensch. Zool. 41. 1885.

verschiedener Weise erreichbar, so daß eigentlich die zweifellos gerade notwendige Summe der Bedingungen für die Umwandlung oder umgekehrt die Gründe für das Verharren des Axolotls in seinem neotenischen Zustande voll und ganz nie erkannt worden sind. Die tieferen inneren Gründe für die Metamorphose sowohl in der Phylogenese wie in der Ontogenese sind überhaupt ganz unklar geblieben, bis *Gubernatschs* Versuche Licht auf das große Problem geworfen haben. Wie schon gesagt, haben diese merkwürdigerweise niemand auf den Weg einer wahrscheinlich äußerst wichtigen und aussichtsreichen Forschung geführt, wenn wir von *Babáks* kurzer, aber wohl von ihm selbst nicht weiter verfolgten Anregung absehen. Ich glaube den Grund darin sehen zu dürfen, daß sich die Biologen überhaupt noch sehr wenig mit der Bedeutung des endokrinen Systems beschäftigt haben. Dabei steht heute fest, daß das endokrine System in einem früher ungeahnten und ganz unerhörten Maße die gesamte Entwicklung beherrscht und, wie das ja *Fischel*<sup>1)</sup> auch ausgesprochen hat, fast vom Augenblick der Einnistung des Eies an durch Diösmose der inneren Sekrete aus dem mütterlichen Blute seinen bestimmenden Einfluß auf das Wachstum und die Entwicklung des Individuums, die hier allein ins Auge gefaßt sein sollen, ausübt.

Lebhaft beschäftigt mit der Frage der Entstehung besonderer individueller Konstitutionen und ihre Beziehungen zum endokrinen System<sup>2)</sup>, mit der Frage der Einpassung des Individuums mit seiner Konstitution in die Umwelt unter äußeren Wirkungen, kam mir bei *Gubernatschs* Mitteilung der Gedanke, durch das Studium der Metamorphose zu gewissen grundlegenden Vorstellungen und möglichst auch zu ihrer exakten Begründung zu kommen. Die damals in meinem Institute in Gang befindlichen Untersuchungen *Adlers* zeigten die leichte Beeinflußbarkeit der endokrinen Organe bei Kaulquappen, insbesondere auch unter äußeren allgemeinen Wirkungen wie Hitze und Kälte, und die deutlichen Beziehungen der Metamorphose zu den Veränderungen der Schilddrüse, worüber *Adler*<sup>3)</sup> in einer schönen Arbeit berichtet hat. Gerade aber der *Siredon pisciformis* schien mir wegen der großen Beständigkeit seiner Neotenie ein Objekt zu sein, an dem nach dem Beispiele *Gubernatschs* weitergeforscht werden könne. Der Krieg hat mich dann verhindert, über meine unabhängig von *Babák*

1) *Fischel*, Die Bedeutung der entwicklungsgeschichtlichen Forschung für die Embryologie und Pathologie des Menschen. *Roux'* Vorträge und Aufsätze über Entwicklungsmechanik **16**. 1912.

2) *Hart*, Über die Beziehungen zwischen endokrinem System und Konstitution. *Berl. klin. Wochenschr.* 1917, Nr. 45.

3) *Adler*, Untersuchungen über die Entstehung der Amphibienneotenie. *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **164**, 1. 1916.

ausgeführten Untersuchungen an mehreren hundert Axolotln ausführlich zu berichten, wozu noch kam, daß ich immer hoffte, zur histologischen Aufarbeitung des großen Materiales und damit zu einer breiteren Grundlage für meine Betrachtungen kommen zu können, die inzwischen zu einem Weiterschreiten auf dem eingeschlagenen Forschungswege geführt haben.

Die Tiere, mit denen ich meine Versuche anstellte, entstammten zwei Zuchtpärchen, die unmittelbar aus Rovigno bezogen worden waren und dort einem alten Stamme (*Amblystoma mexicanum*) angehört hatten, in dem niemals eine spontane Umwandlung der neotenen Jugendform in die Molchform beobachtet worden war. Bei dem einen Pärchen war das Männchen ein Albino, woraus sich eine günstige Gelegenheit ergab, aus dem Laich für die verschiedensten Versuche natürliche, leicht erkennbare Kontrollen zu gewinnen. Ich berichte nur über die Versuche mit Schilddrüsenfütterung, die mit Kalbs-, Rinder-, Hammel- und Menschenschilddrüse vorgenommen wurden.

Um das Ergebnis mit wenigen Worten vorauszunehmen: Ebenso wie bei Kaulquappen gelingt es beim Axolotl leicht, mit Schilddrüsenfütterung die Metamorphose beliebig herbeizuführen und zu überstürzen. Die Funktion der Schilddrüse ist offenbar bei allen Wirbeltieren mit Metamorphose ein treibendes und beherrschendes Moment für diese. Schon ganz wenige kleine Bissen genügen zur Einleitung der Umwandlung des Axolotls und für den auffallend schnellen Ablauf ihrer wichtigsten Erscheinungen. Auch bei den entsprechenden Kaulquappenversuchen tritt uns diese Tatsache entgegen. So sei auf *Abderhaldens* (a. a. O.) Mitteilung verwiesen, daß auch dort nur äußerst geringe Mengen von Substanz genügen, um die sehr charakteristischen Wirkungen zu entfalten. Verwandte er doch nur 5—20 ccm einer Lösung von 1 g Trockensubstanz in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Ferner hat *Romeis* (a. a. O.) gezeigt, daß es genügt, die Eier während der ersten Furchungsstadien ein einziges Mal für 24 Stunden in eine schwache Jodothyrlösung zu bringen, um acht bis vierzehn Tage später die charakteristischen Schilddrüsen Symptome auftreten zu sehen. Deshalb kommt auch nach meiner Meinung den Versuchen, den Wert therapeutischer Schilddrüsenpräparate durch Verfütterung an den Axolotl zu prüfen, keine allzu große Bedeutung zu, es müßte sich denn um den Nachweis der Abwesenheit von Schilddrüsen Substanz in den Präparaten überhaupt, also von Fälschungen handeln, die wir den in Betracht kommenden Firmen doch wohl nicht zutrauen dürfen.

Die Umwandlungsversuche gelingen an Axolotln jeden Alters. Nur wenige Zentimeter lange wandeln sich in gleicher Weise um wie ausgewachsene, am geeignetsten sind aber doch nach meinen Erfahrungen

die halb bis fast ganz ausgewachsenen Tiere, aus denen allein sich lebensfähige Landbewohner gewinnen lassen, wie sie sich unter natürlichen Umständen etwa entwickelt haben könnten. Der Eintritt der Metamorphose bei noch ganz kleinen Axolotln, die unter natürlichen Verhältnissen noch weit von der Umwandlung entfernt wären, zeigt, welch gewaltige, unwiderstehliche Wirkung der Schilddrüse zukommt, deren im Übermaß zugeführte wirksame Substanz die Metamorphose einfach erzwingt.

Alle Beobachtungen weisen darauf hin, daß der Organismus der Versuchstiere dem Übermaß von Schilddrüsenwirkung machtlos gegenübersteht und nicht fähig ist, den — wenigstens vom Darm aus zugeführten — spezifisch wirksamen Stoff etwa durch Umstellung im endokrinen System schnell zu neutralisieren, wenn ich mich kurz so ausdrücken darf. Die Um- und Neueinstellung des endokrinen Systems, die wir bei übermäßigem Funktionieren eines endokrinen Organes feststellen können, und die auch unter pathologischen Verhältnissen der Herstellung eines Gleichgewichtszustandes, dem Bemühen um Harmonie, dient, ist offenbar nur möglich bei allmählichem Eintreten der krankhaften Organfunktion bestimmten Grades, weil die physiologischen, schnell wirksamen Schwankungen ihre Grenze haben. Dabei ist die Breite der physiologischen Funktionsschwankungen endokriner Organe wahrscheinlich eine recht erhebliche, denn die Organe sind, wie das z. B. auch *Gley*<sup>1)</sup> betont, auf eine Luxusfunktion eingerichtet und die jüngst noch von *Rössle*<sup>2)</sup> angeführte Tatsache, daß man die menschliche Schilddrüse bis auf ein Siebentel, das Pankreas bis auf ein Viertel, von den vier Epithelkörperchen zwei entfernen kann, ohne die Funktion wesentlich zu beeinträchtigen, zeigt, daß unter gewöhnlichen Lebensbedingungen die volle Funktion der endokrinen Organe (wie auch anderer) nicht in Anspruch genommen wird und sich nach den durch entsprechende Reize bedingten Anforderungen richtet. Erst wenn die endokrine Organfunktion die physiologische Breite etwa wie beim Morbus Basedowi überschreitet unter Bedingungen, die uns noch so gut wie ganz verborgen sind, kommt Unordnung in das endokrine System, gestaltet sich das Leben krankhaft, fehlt dem Organismus die Kraft, des Übermaßes einer einzelnen endokrinen Funktion Herr zu werden und einen Ausgleich zu schaffen.

Die durch Schilddrüsenfütterung erzwungene Metamorphose des Axolotls ist im Hinblick auf diese Betrachtung besonders deshalb be-

<sup>1)</sup> *Gley*, Die Lehre von der inneren Sekretion, ihre physiologischen Grundlagen und ihre Anwendung in der Pathologie. Übers. von Al. Lipschütz. Abhandl. u. Monogr. a. d. Geb. d. Biol. u. Med. 1920, Heft 1. Bircher, Bern-Leipzig.

<sup>2)</sup> *Rössle*, Beiträge zur Kenntnis der gesunden und der kranken Bauchspeicheldrüse. Zieglers Beiträge z. allg. Path. u. pathol. Anat. 69, 163. 1921.

merkwürdig, weil es eine alte, namentlich schon von *M. v. Chauvin* (a. a. O.) ausgesprochene Ansicht ist, die Neotenie beruhe auf einem endogenen, eingeborenen mächtigen Triebe, der den Wirkungen äußerer Lebensbedingungen entgegenarbeite und nie ganz unterdrückt werden könne. Ob man nun annehmen will, es habe sich phylogenetisch die Metamorphose, also die Weiterentwicklung, des *Siredon pisciformis* überhaupt nicht vollzogen, oder mit *Camerano*<sup>1)</sup>, *Wichand*<sup>2)</sup> und besonders *Weismann*<sup>3)</sup> einen Atavismus annimmt, derart, daß gewisse Veränderungen der Lebensbedingungen die Amblystomen wieder auf die Stufe von Perennibranchiaten zurücksinken ließen, immer zeigt uns die nie zu spontaner Umwandlung führende Beständigkeit des *Siredon pisciformis*, wie fest verankert im Organismus, in seinen Erbsubstanzen, die Neotenie ist. Es muß eine erblich fixierte Einstellung des endokrinen Systems, eine bestimmte konstitutionelle „pluriglanduläre Formel“ gegeben sein, die jede zur Metamorphose treibende Funktion der Schilddrüse hemmt und die wir nur durch einen Gewaltakt ihrer Bedeutung im Leben des Tieres berauben können. Bedenken wir, mit welch kleinen Gaben das gelingt, so erhalten wir zugleich eine Vorstellung, mit welch geringen Mengen endokriner Stoffe die großartigen Wirkungen im Organismus auch unter physiologischen Verhältnissen ausgeübt werden.

Die Metamorphose des Axolotls unter der Schilddrüsenwirkung eingehend zu schildern erübrigt sich, da sie in nichts verschieden ist von der, wie sie namentlich *M. v. Chauvin* und spätere Untersucher beschrieben haben, wenn man vielleicht von ihrem schnellen Eintritt und stürmischen Ablauf absieht. Ich berühre daher, zumal es mir hauptsächlich auf große allgemeine Gesichtspunkte ankommt, nur einige, teilweise schon von *Laufberger* hervorgehobene, Einzelheiten kurz.

Am auffallendsten ist natürlich der Schwund der Kiemenbüschel. Zunächst schwinden die feinen Zöttchen, die Kiemen nehmen eine Form an, wie sie sich spontan bei alten Axolotln ausbildet. Es bleibt gewissermaßen nur der Grundstock der Büschel mit den groben Ästen stehen. Auch diese schrumpfen weiterhin zusammen, werden zu kurzen, plumpen Stummeln, dann zu rundlichen, dicken knospenartigen Gebilden und schließlich kann der Schwund so weit gehen, daß der Rand der Kiemenspalte fast glatt ist und keine Spur der Kiemenbüschel mehr erkennen läßt.

<sup>1)</sup> *Camerano*, Intorno alla Neotenia ed all sviluppo degli Anfibi. Atti della acad. di Torino. **19**. 1883/84.

<sup>2)</sup> *Wichand*, Über Neotenie bei Tritonen. Bl. f. Aquar.- u. Terrar.-Kunde **17**. 1906.

<sup>3)</sup> *Weismann*, Über die Umwandlung des mexikanischen Axolotls in ein Amblystoma. Zeitschr. f. wissensch. Zool. Suppl. **25**. 1875. — Studien zur Descendenztheorie. Leipzig 1875.

Die zweite auffällige Erscheinung, die gleichzeitig mit der Atrophie der Kiemenbüschel auftritt, ist die Rückbildung des mächtigen Ruderschwanzes bzw. des langen Rückenkammes. Er wird eigentümlich welk, legt sich um und geht mehr und mehr verloren, bis vom Schwanz nur noch die fleischige Achse einen dünnen niedrigen Rest darstellt und auf dem Rücken sich über der Wirbelsäule eine mediane Furche ausgebildet hat, wie man sie sehr schön auf den Abbildungen (Abb. 5 u. 6)

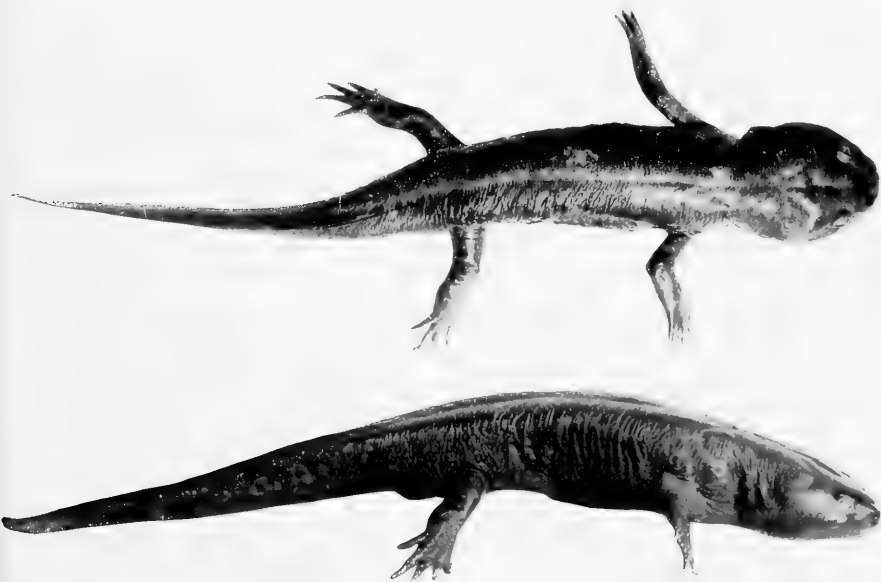


Abb. 5. Lichtbild eines durch Schilddrüsenfütterung umgewandelten Axolotls. Fast ausgewachsenes Tier.  $\frac{4}{5}$  der natürlichen Größe.

erkennen kann, die überhaupt besser als viele Worte die Wirkung der Schilddrüsenfütterung zeigen.

Zugleich mit diesen Veränderungen findet eine deutliche Umgestaltung des Kopfes, aber auch des Rumpfes statt. Was die Kopfform anbelangt, so vergleicht man am besten die Abbildungen der metamorphosierten Tiere mit dem weißen Kontrollaxolotl der ersten Abbildung. Bei der Metamorphose wird der Kopf länger, lanzettförmig, vorn zugespitzt, zugleich niedriger und die Augen geraten in eine ausgesprochen seitliche Lage. Jeder, der einen Axolotl aus dem Aquarium genau kennt, wird mit Verwunderung die Veränderung des Kopfes wahrnehmen, wie sie besonders auch auf der Seitenansicht der Tiere zum Ausdruck kommt. Dadurch, daß der Rumpf in seinem vorderen Abschnitte höher und schmaler wird, zeigt die Seitenansicht etwas, das an Bilder von alten Sauriern erinnert.

Zwei Beobachtungen möchte ich ferner noch besonders hervorheben. Das ist einmal der ausgesprochene Exophthalmus, den alle vollkommen metamorphosierten Axolotl aufweisen und zweitens die Prognathie. Ich erkläre mir den ersteren im wesentlichen aus der übermäßigen Schilddrüsenwirkung, ähnlich wie beim menschlichen Morbus Basedowi, indem ich es dahingestellt sein lasse, wieweit die Umformung des Kopfes dabei eine Rolle spielt. Ganz auf letztere beziehe ich aber das starke Vorstehen des Unterkiefers, der bei seinem festen Gefüge nach meiner Meinung nicht den Veränderungen des knorpeligen Kopfskelettes in genügend schnellem Maße oder überhaupt nicht zu folgen vermag. Am stärksten ausgeprägt waren Exophthalmus und Prognathie bei dem am längsten am Leben gehaltenen Tier, auf dessen nach der Natur gemaltes Bild (Abb. 7) ich hiermit verweise.

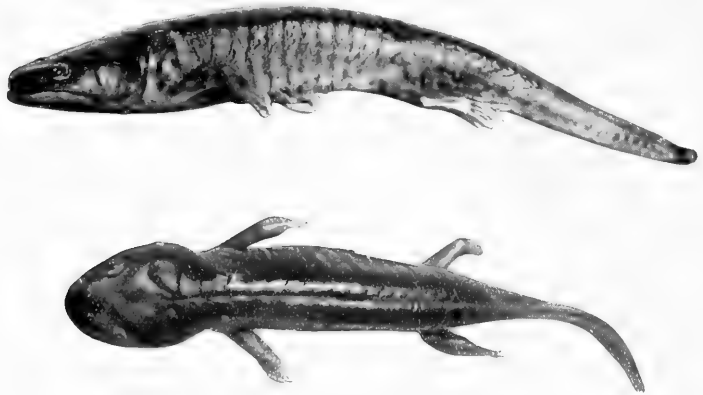


Abb. 6. Lichtbild eines durch Schilddrüsenfütterung umgewandelten Axolotls. Halb erwachsenes Tier.  $\frac{1}{10}$  der natürlichen Größe.

Schließlich will ich noch hervorheben, daß während der durch Schilddrüsenfütterung unterhaltenen Metamorphose unter wiederholter Häutung, die natürlich auch bei dem Schwinden des Ruderschwanzes eine Rolle spielt, eine bemerkenswerte Pigmentverschiebung stattfindet, die zu besonders mikroskopisch sehr interessanten Bildern führt, über die ich später einmal näher zu berichten beabsichtige. Der Einfluß endokriner Organe auf die Pigmentverhältnisse ist uns längst wohlbekannt und auch in den Kaulquappenversuchen fast regelmäßig beobachtet und erwähnt worden. Indem man den in der Metamorphose begriffenen Axolotln immer wieder von Zeit zu Zeit etwas Schilddrüse gibt, kann man die Häutung in einem solchen Maße anregen und überstürzen, daß eine die andere jagt, ohne daß ein rechter Ruhezustand der Haut eintritt. Ergibt sich hier vielleicht ein neuer Ausblick auf endokrine Auslösung und Beeinflussung der Häutung?



Alle metamorphosierten Axolotl sind kleiner und leichter als vorher. Zuweilen und besonders bei den vollständig umgewandelten Tieren ist dieser Unterschied sehr beträchtlich. Die Größenabnahme beruht natürlich zum Teil auf dem Verlust des Ruderschwanzes und der ganzen Umgestaltung des Körpers. Es läßt sich aber sehr leicht erkennen und feststellen, daß eine große Bedeutung Änderungen im Wassergehalt der Gewebe zukommt, wie solche schon physiologisch bei der Reifung und dem Altern auch des menschlichen Organismus eine Rolle spielen. Bei mit Schilddrüsensubstanz gefütterten Kaulquappen kann man die Änderungen des Wassergehaltes der Gewebe besonders schön sehen. *Romeis* (a. a. O.) stellte bei manchen seiner Versuchstiere eine in kürzester Zeit erfolgende Gewichtsverminderung auf etwa 70 % des Anfangsgewichtes fest. Auch auf *Abderhaldens* Bemerkung über den



Abb. 7.

Wassergehalt der Gewebe sei hingewiesen. Bezüglich der Bedeutung der Schilddrüsenfunktion für den Wasserhaushalt bezieht sich *Romeis* auf *Eppingers* Beobachtung, nach der Schilddrüsenfütterung auch beim Menschen eine diuretische Wirkung übt. In der Pathologie kennen wir aber längst das Myxödem, die wäßrige Gewebsquellung, als Folge des Schilddrüsenausfalles. Vielleicht kommen wir einmal dazu, die Beziehungen bestimmter Einstellungen des endokrinen Systems in den verschiedenen Lebensaltern zum Wassergehalt des Organismus genauer kennenzulernen. Unter diesem Gesichtspunkte ließe sich gewiß die Tatsache betrachten, daß ein neugeborenes Kind 66—89 %, ein Erwachsener aber nur 58% Wassergehalt besitzt, der mit dem Altern des Organismus immer weiter sinkt<sup>1)</sup>.

Zum großen Teile beruht aber die Größen- und Gewichtsabnahme der umgewandelten Axolotl auf einer mangelhaften Nahrungsaufnahme. Die metamorphosierenden Tiere hören nämlich auf zu fressen, was bekannten Erfahrungen entspricht. Ob das darauf beruht, daß die Metamorphose das Nahrungsbedürfnis zeitweilig herabsetzt oder

<sup>1)</sup> *Beckhold*, Die Kolloide in Biologie und Medizin, 4. Aufl. Steinkopff, Dresden-Leipzig 1922.

aufhebt, wobei dann nur Körpersubstanz verbraucht wird, oder ob, wie es namentlich von *Loos*<sup>1)</sup> behauptet worden ist, die Tiere nicht fressen können, ist eine alte Streitfrage, zu der ich nicht näher Stellung nehmen will. Meine Beobachtung über die Prognathie und eine mit ihr möglicherweise verbundene Störung der Mechanik des Kiefergelenkes sind, soweit wenigstens der künstlich metamorphosierte Axolotl in Betracht kommt, geeignet, die Ansicht von *Loos* zu stützen. Auch in den Kaulquappenversuchen *Romeis'* (a. a. O.) ist es übrigens, wie ich hier bemerken will, zu Mißbildungen der Mundöffnung gekommen, die ein Schließen derselben unmöglich machten. Doch wie dem auch sei, jedenfalls besteht bei den in Umwandlung begriffenen Axolotln ein schwerer Hungerzustand, den man fast nur durch künstliche Ernährung bessern oder hintanhalten kann. Ich sehe aber keinen Anlaß, auf ihn etwa die Häutung zurückzuführen, wie es *Ružička*<sup>2)</sup> getan hat.

Erhalten die Axolotl nur wenige Gramm Schilddrüsensubstanz, so bleibt die Freßlust bzw. das Freßvermögen leidlich erhalten oder stellt sich wieder her. Aber es kommt auch zweifellos die Metamorphose nicht zu völligem Abschluß. Will man diesen erzielen, so muß man immer wieder Schilddrüse verabreichen, was schließlich nur noch zwangswise möglich ist, während die ersten Male die hingehaltenen Brocken gierig weggeschnappt werden. Erwarten muß man namentlich, daß die metamorphosierten Axolotl spontan an Land gehen, somit sich als lungenatmend erweisen. Meine Versuchstiere wurden in einem 1 m langen und  $1/2$  m breiten Aquarium mit einem tiefsten Wasserstand von 10 cm gehalten; ganz allmählich erhob sich aus dem Wasser eine feinkörnige Kieselsteinschicht, die vom Rande des Wassers an noch mit einer Lage von Moos bedeckt war, das ständig feucht gehalten wurde. So oft auch die völlig umgewandelten Axolotl ins tiefste Wasser gesetzt wurden, strebten sie doch dem Lande zu und blieben im seichten Wasser liegen oder verkrochen sich in das Moos. Ich hatte den Eindruck, als seien die Tiere lichtscheu. Ein nach der Natur gemaltes Bild (Abb. 7) zeigt das Tier, bei dem mir die Umwandlung am weitesten gelungen ist. Die hellen Hautflecke zeigten einen etwas gelblicheren Farbenton, die feine Runzelung der Haut ist nicht zur Darstellung gekommen, man sieht sie dafür sehr deutlich auf den Lichtbildern (Abb. 5 u. 6). Die Bauchhaut des gemalten Tieres sah weißlichgelb aus<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> *Loos*, Über Degenerationserscheinungen im Tierreich usw. Leipzig 1889.

<sup>2)</sup> *Ružička*, Restitution und Vererbung. Experimenteller, kritischer und synthetischer Beitrag zur Frage des Determinationsproblems. *Roux'* Vorträge und Aufsätze über Entwicklungsmechanik 23. 1919.

<sup>3)</sup> *Anmerkung bei der Korrektur*. Erst nach Einreichung dieser Abhandlung bin ich durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Geh.-Rat Abderhalden auf

Für die aus diesen Versuchen sich ergebenden Folgerungen bleibt es gleichgültig, ob die erzeugte Molchform in jeder Hinsicht derjenigen entspricht, die bei natürlichem Eintritt und Ablauf der Metamorphose hervorgebracht worden wäre. Die Versuche sind ja im Grunde recht gewaltsamer Art und arbeiten zweifellos mit einer Schilddrüsenwirkung, wie sie in der Natur unter normalen und wahrscheinlich auch abnormen Verhältnissen nicht vorkommt. Davon abgesehen aber darf die künstliche Metamorphose des Axolotls durch Schilddrüsenfütterung eine ganz besondere Bedeutung beanspruchen. Wie bei den Kaulquappenversuchen *Gudernatschs* und späterer Forscher sehen wir den Eintritt und Ablauf der Metamorphose von der Funktion der Schilddrüse beherrscht. Bei den Kaulquappen ist die Metamorphose eine rein ontogenetische Erscheinung, die physiologischerweise und unter normalen Lebensbedingungen der Tiere zu einem ganz bestimmten Zeitpunkte der individuellen Entwicklung einsetzt und eine wesentliche artgemäße Phase der Reifung der Tiere darstellt. In dieser Hinsicht ist also die Metamorphose erblich fixiert. Wir müssen uns vorstellen, daß das endokrine System ein für allemal erblich so eingestellt ist, daß zu einem in engen Grenzen schwankenden Zeitpunkt der Entwicklung die Funktion der Schilddrüse in den Vordergrund tritt, was in sehr verschiedener Weise vor sich gehen kann, und nun den Beginn der Umwandlung auslöst, sie weiter bis zur Vollendung beherrscht, während etwa die das Wachstum, die reine Massenzunahme, fördernde Thymusfunktion zurücktritt. Ein solches abwechselndes

---

die Arbeiten Ed. Uhlenhuths aufmerksam geworden, die im *Journ. of exper. med.*, *Journ. of general physiol.*, *Journ. of exper. zool.* und in den *Studies from the Rockefeller Institute for medical research* in den Jahren 1915—1920 erschienen sind. Aus letzteren führe ich besonders an: *Nature of the retarding influence of the thymus upon amphibian metamorphosis.* Vol. 33, S. 147. 1920; *Relation between thyroid gland, metamorphosis and growth.* Vol. 33, S. 249. 1920; *Relation between metamorphosis and other developmental phenomena in amphibians.* Vol. 34, S. 1. 1920. In diesen Aufsätzen führt Uhlenhuth den Nachweis, daß die Hemmung bzw. Verhinderung der Metamorphose durch Verfütterung von Thymus nicht etwa auf einer derart spezifisch wirkenden Substanz dieses Organs beruht, sondern auf dem Nichtvorhandensein von Jod. Insbesondere ist die Häutung und die Rückbildung der Kiemen von der Anwesenheit mit der Nahrung aufgenommenen Jodes abhängig, was für andere Erscheinungen der Metamorphose nicht gilt. Außer dem Jod ist nach Uhlenhuth für die Metamorphose noch eine während des Wachstums sich bildende „sekretorische Substanz“ wichtig, welche die spezifische Funktion der Schilddrüse auslöst. Hierbei spielen Temperatureinflüsse eine große Rolle. Auf gewisse bemerkenswerte Einzelheiten denke ich später näher eingehen zu können, hier sei nur kurz darauf hingewiesen, daß Uhlenhuth sehr schöne Bilder des umgewandelten *Amblystoma tigrinum* mit gelben Flecken und Streifen je nach der Temperaturwirkung bringt, an denen besonders auch der Exophthalmus, weniger gut die Veränderung der Kopfform zu sehen ist.

Hervortreten einzelner Organe in Wachstum und Entwicklung ist uns ganz allgemein wohlbekannt und ganz besonders begegnet man ihm auch an dem endokrinen System, wobei ja nur an die gewaltige Umstellung der endokrinen Funktionen zur Zeit der Pubertät erinnert zu werden braucht.

Die totale Neotenie des Axolotls ist natürlich auch eine ontogenetische Erscheinung. Aber wenn auch die Metamorphose der Kaulquappen eine Wiederholung der Phylogenese in der Ontogenese, kurz nach dem schon von *Wichand* herangezogenen sogenannten biogenetischen Grundgesetz *Häckels* ausgedrückt, darstellt, so führt uns die Neotenie des Axolotls den wichtigen phylogenetischen Vorgang viel deutlicher vor Augen. Man nimmt allgemein an, daß ganz bestimmte Lebensbedingungen, Einflüsse der Umwelt, zu irgendeiner Zeit die Metamorphose des *Amblystoma* verhindert und das Tier gezwungen haben, in einer neotenischen Form, die uns die nächst voraufgehende, tiefere Entwicklungsstufe erblich fixiert, dauernd zeigt, der Umwelt sich anzupassen. Diese Einwirkungen müssen wohl sehr nachhaltiger Art nach Stärke und Dauer gewesen sein, da sie zu einer totalen Neotenie geführt haben, ohne krankmachend wirken zu dürfen oder gar die Lebensfähigkeit zu beeinträchtigen. Auch jetzt noch können wir immer wieder den Einfluß äußerer Lebensbedingungen auf den Eintritt und Ablauf der Metamorphose bei Kaulquappen namentlich erkennen. Denn besonders unter der Wirkung niedriger Temperaturen begegnen wir einer mehr oder weniger starken Verzögerung der Metamorphose in der freien Natur durchaus nicht selten, und wie diese sich bei den Einzelindividuen mancher Arten unter solchen ungünstigen Bedingungen bis in das nächste Jahr hinein verschieben kann, so ist es offenbar eine allmählich entstandene Anpassungserscheinung, daß manche Arten überhaupt neotenisch überwintern, um erst im nächsten Frühjahr und Sommer zu metamorphosieren.

Nachdem wir so zu der Überzeugung gekommen sind, daß allem Anschein nach ganz allgemein, ontogenetisch und phylogenetisch, die Metamorphose sich vollzieht bzw. vollzogen hat unter dem beherrschenden Einfluß der Schilddrüsenfunktion<sup>1)</sup>, daß andererseits aber

<sup>1)</sup> Eine experimentelle Hemmung dieser Funktion muß also auch den Eintritt der Metamorphose aufhalten. In der Tat macht *Romeis* auch die kurze Bemerkung, daß es ihm durch Thyreoektomie gelungen sei, eine mehrmonatige Verzögerung der Umwandlung bei Kaulquappen zu erzielen. (*Romeis*, Der Einfluß innersekretorischer Organe auf Wachstum und Entwicklung von Froschlarven. Die Naturwissenschaften, Jahrg. 8, S. 44, 860. 1920.) Ebenso gelang es *Schulze* neuerdings, bei *Rana fusca* durch Exstirpation der Schilddrüse Neotenie zu erzeugen, die sich durch Fütterung mit Rinderschilddrüse beheben ließ. (*Wern. Schulze*. Weitere Untersuchungen über die Wirkung innersekretorischer Drüsen-substanzen auf die Morphogenie. Klin. Wochenschr. I. Jahrg. Nr. 18. S. 895. 1922.)

die Metamorphose ganz zweifellos bestimmt wird durch die Wirkung äußerer Lebensbedingungen auf den Organismus, ergibt sich diese Folgerung ganz von selbst: *Die äußeren Faktoren der Umwelt wirken bestimmend auf Eintritt und Ablauf der Metamorphose nur durch die Beeinflussung der Funktion der Schilddrüse.*

Damit ist eine feste Brücke geschlagen zwischen den beiden, besonders früher sich lebhaft bekämpfenden Anschauungen, deren eine das Ausbleiben der Metamorphose und die Bildung neotenischer, im Wasser bleibender Dauerformen auf äußere Einwirkungen zurückführt, während die andere endogene Kräfte als wirksam annimmt, ohne sich freilich bisher von diesen eine klare Vorstellung bilden zu können. Welcher Art die äußeren Einflüsse auch sein mögen, wir werden heute nicht mehr mit *M. v. Chauvin* fragen, „ob die Beschaffenheit des Wassers oder ob die umgebende Temperatur die Tiere beeinflußt oder ob ein innerer Impuls vorwiegend den Trieb zur Metamorphose erweckt“, sondern können mit Gewißheit sagen, daß äußere Faktoren neben inneren und durch sie wirken. So ist also der Gegensatz zwischen den „Milieueinflüssen“ und andererseits den beispielsweise von *Kollmann*<sup>1)</sup> als für die Neotenie maßgebend angenommenen „in dem Organismus der Larven selbst wirkenden Umständen“ geschwunden. Und selbst in der Hinsicht, daß verschiedene äußere Einwirkungen in Betracht kommen, besteht Übereinstimmung, insofern durchaus nicht behauptet werden soll, daß die Schilddrüse als einziges endokrines Organ auf die Metamorphose Einfluß übt. So konnte beispielsweise *Abderhalden* eine deutliche Förderung der Entwicklung bei Hypophysenwirkung auf Kaulquappen erkennen. Auch weist *Adler* schon darauf hin, daß *Hahn*<sup>2)</sup> bei zufällig in Kulturen *R. Hertwigs* entstandenen Riesenkaulquappen Veränderungen der Hypophyse gefunden hat, über deren Bedeutung sich aber ebensowenig etwas Bestimmtes aussagen läßt wie über die von *Babák* geäußerte Vermutung, die ihm durch Zerstörung gewisser Hirnteile<sup>3)</sup> gelungene Hemmung der Metamorphose sei möglicherweise durch eine gleichzeitige Schädigung der Hypophyse bedingt gewesen. Dagegen ist auf *Adlers* (a. a. O.) gelungenen Versuch hinzuweisen, bei Temporarialarven den Eintritt der Metamorphose durch Wegbrennen der Hypophyse zu verhindern. Indem *Adler* auf die Ansicht *Kammerers* verweist, daß auch die durch

1) *Kollmann*, Das Überwintern von europäischen Frosch- und Tritonlarven und die Umwandlung des mexikanischen Axolotls. Verhandl. d. naturf. Gesellsch. Basel 1884.

2) *Hahn*, Einige Beobachtungen an Riesenlarven von *Rana esculenta*. Arch. f. mikroskop. Anat. 80, 1. Abt. I. 1912.

3) *Babák*, Über die Beziehung des zentralen Nervensystems zu den Gestaltungsvorgängen der Metamorphose des Frosches. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 109, 78. 1905.

Kastration bedingten Veränderungen in gewissem Sinne als Neotenie aufzufassen seien, meint er, es könne nicht zweifelhaft sein, „daß tatsächlich die Funktion des vieldrüsigen innersekretorischen Systems den Eintritt und den Verlauf der Metamorphose reguliert, daß die Blutdrüsen — in Einzel- oder Korrelativwirkung — einen direkten formativen Reiz bei der Verwandlung der Larven abgeben“. Aber alle weiteren Untersuchungen werden schwerlich etwas an der Annahme ändern, daß die Schilddrüsenfunktion am wichtigsten für Eintritt und Ablauf der Metamorphose ist, sei es, daß sie unmittelbar durch äußere Einwirkungen gesteigert wird, sei es, daß sie mehr mittelbar infolge des Wegfalls gewisser Hemmungen bei Umstellungen im endokrinen System in den Vordergrund tritt.

Für die hohe Bedeutung der Schilddrüse hat schon vor Jahren *Adler* (a. a. O.) auf anderem Wege wichtige Stützen beigebracht. Er fand bei Hitzekulturen von Temporalialarven eine Verzögerung der Metamorphose bei histologisch mehr oder weniger stark verkleinerter, aber einen normalen Bau aufweisender Schilddrüse, bei Kälte-Hitzekulturen gleichfalls Verzögerung der Umwandlung mit noch stärkerer Hemmung des Wachstums bei einer Atrophie der Schilddrüse, die manchmal einer völligen Zerstörung des Organs gleichkam, bei Hitze-Kältekulturen endlich eine bis zur gänzlichen Hemmung sich steigende Hinausschiebung der Metamorphose, während die Schilddrüse starke Wucherung des Follikel epithels nebst Verflüssigung des Kolloides aufwies. So konnte er bald Zwergfröschen, bald Riesenkaulquappen, auch Fröschehen mit äußeren Miß- und Hemmungsbildungen gewinnen mit ganz verschiedener Schilddrüsenstruktur. Mit Recht bemerkt *Adler*, daß sich hier der Weg zeige, auf dem exogene Lebensbedingungen die Merkmale der Organismen zu verändern imstande sind. „Es erscheint zweifellos, daß die Thyreoidea unter dem Einfluß verschiedener extremer Temperaturen spezifische morphologische Veränderungen zeigt, und es ist daran zu denken, daß auch geringere Temperaturveränderungen jedesmal von einer entsprechenden funktionellen — wenn auch nicht morphologisch zum Ausdruck kommenden — Einstellung gefolgt sind.“ Diese Ansicht entspricht in der Tat den Vorstellungen, die wir uns von den feinen fortwährenden Schwankungen der Funktionen im endokrinen System machen müssen. Wenn man sie im allgemeinen auch histologisch zum Teil gar nicht, zum Teil nur schwer wird erkennen können, so muß man doch damit rechnen, vielleicht bei den unter verschiedenen klimatischen Verhältnissen lebenden Lokalrassen mancher Arten histologische Unterschiede der Schilddrüsen zu finden. Das ist in der Tat auch *Adler* gelungen, indem er feststellte, daß Froschlarven und metamorphosierte Frösche der von ihnen bewohnten Gegend bzw. deren Klima entsprechende

Schilddrüsen besitzen. Nach *Adler* haben nämlich die kältengewohnten Alpentiere relativ große Schilddrüsen mit vielen kleinen Follikeln, während die wärmeliebenden Adrialarven sich durch verhältnismäßig kleine Schilddrüsen mit wenig zahlreichen großen Follikeln auszeichnen und dem Klima in Mitteldeutschland entsprechend die Schilddrüsen der Frösche eine Mittelstellung zwischen den beschriebenen beiden Formen einnehmen.

Noch in einer anderen Arbeit hat *Adler*<sup>1)</sup> nachgewiesen, daß die verschiedenen Lokalrassen von Grasfröschen starke Unterschiede im Verhalten der Schilddrüse zeigen, die um so interessanter sind, als sie möglicherweise in Zusammenhang mit der sexuellen Differenzierung stehen. Es konnte nämlich festgestellt werden, daß in den bayerischen Alpen (Ursprungtal) eine Lokalrasse von Grasfröschen vorkommt, bei denen sich im jugendlichen Alter eine Schilddrüse entsprechend dem histologischen Bau der menschlichen Basedowschilddrüse findet, während sie bei 1½-jährigen und älteren Tieren derselben Gegend die gewöhnliche Struktur zeigt. Zugleich soll eine Markhyperplasie des Thymus vorhanden sein, die aber meiner Meinung nach nur mit größter Vorsicht zu beurteilen ist, nachdem der Begriff durch den bekannten schwedischen Anatomen und Thymusforscher *Aug. Hammar* stark erschüttert worden ist. Da bei den Grasfröschen des Ursprungtales als einziger Lokalrasse zudem von *Witschi*<sup>2)</sup> ein bedeutendes Überwiegen der ausgewachsenen Männchen festgestellt worden ist, glaubt *Adler*, daß die stark funktionierende Schilddrüse männchenbestimmend wirke. In einer weiteren Arbeit werde ich Gelegenheit haben, auf die Beziehungen der Schilddrüse zu der Keimdrüse ganz allgemein einzugehen, die *Adler* namentlich auch auf Grund seiner Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus überreifer Eier annimmt. Hier genügt uns die Feststellung, daß sich weitere Beweise für die Abhängigkeit der Schilddrüsenfunktion von den Einflüssen der äußeren Lebensbedingungen ergeben haben. Diese sind selbstverständlich sehr vielfältiger und verwickelter Natur, aber wir werden kaum fehlgehen in der Annahme, daß den Temperaturverhältnissen eine besonders wichtige Rolle zukommt. Ich sehe eine wichtige, freilich schwere Aufgabe der Forschung darin, in möglichster Reinheit die einzelnen Bedingungen in ihrer Wirkungsweise auf die endokrinen Organe zu ermitteln, die sich unter den bequemen, allgemeinen Ausdrücken wie

<sup>1)</sup> *Adler*, Experimentelle Untersuchungen über die sexuelle Differenzierung bei *Rana temporaria*. I. Der Wirkungsmechanismus überreifer Eier. *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **183**, 23. 1920.

<sup>2)</sup> *Witschi*, Experimentelle Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der Keimdrüsen von *Rana temporaria*. *Arch. f. mikroskop. Anat.* **85**. 1914. — Studien über die Geschlechtsbestimmung bei Fröschen. *Arch. f. mikroskop. Anat.* **86**. 1914.

Klima und Milieu verbergen. In ihrem Zusammenwirken und Ineinandergreifen werden sie nicht minder verwickelt sein wie der innige funktionelle Zusammenhang im endokrinen System, der gleichfalls der Forschung noch ein weites Arbeitsfeld bietet.

Unter Verallgemeinerung der über die Beeinflussung der Schilddrüse durch äußere Faktoren gemachten Erfahrungen bin ich<sup>1)</sup> zu der Aufstellung des biologischen Gesetzes gekommen, daß *äußere Einflüsse auf den Organismus, wie sie sich aus den Lebensbedingungen (Ernährung, Klima, Milieu) ergeben, im wesentlichen nur wirksam werden durch die Vermittlung des endokrinen Systems. Die äußere Bewirkung wandelt sich in eine innere um, es findet eine Transformation der Kräfte statt, die den äußeren Einfluß verfeinert und spezialisiert. Diese Umwandlung äußerer Kräfte in innere durch das endokrine System dient einer von diesem ausgehenden und beherrschten Regulation des Organismus, infolge deren dem Individuum die Einpassung in die Lebensbedingungen seiner Umwelt ermöglicht wird. Die Lebens- und Entwicklungsmöglichkeit der hier in Betracht kommenden Tiere liegt — in ontogenetischer wie phylogenetischer Hinsicht — wesentlich begründet in diesem Gesetz der Umwandlung äußerer Kräfte in innere durch die endokrinen Organe.*

---

<sup>1)</sup> Hart, Konstitution und endokrines System. Zeitschr. f. angew. Anat. u. Konstitutionsl. **6**, 71. 1920. — Zum Wesen und Wirken der endokrinen Drüsen. Berl. klin. Wochenschr. 1921, Nr. 21, S. 533.



# Beiträge zur biologischen Bedeutung der innersekretorischen Organe.

II. Mitteilung.

## Der Einfluß abnormer Außentemperaturen auf Schilddrüse und Hoden.

Von

Prof. Dr. C. Hart, Berlin-Schöneberg.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. März 1922.)

Alle Lebewesen stehen dauernd unter dem Einfluß der in ihrer Umwelt gegebenen Lebensbedingungen. Die Entwicklung des Individuums von der Eizelle zur vollendeten Form, zum artgemäßen Phaeno- (Johannsen) oder Paratypus (Siemens), vollzieht sich also nicht nur auf Grund vererbter Anlage sondern zugleich unter der fortgesetzten Einwirkung sehr verschiedener äußerer Faktoren, die im Gegensatz zu jener nicht ein für allemal vorausbestimmt sind, vielmehr großen „Zufälligkeiten“ unterliegen. Nur insofern sind dieser äußeren Bewirkung Schranken gesetzt, als sie natürlich nur das aus dem Organismus herausholen kann während seiner Entwicklung, was Art und Stärke seiner art- und individualgemäßen Reaktion auf alle solche Reize möglich ist. Immer wird diese Reaktion ihre physiologischen Grenzen haben, innerhalb deren ein „normales“ Individuum sich entwickeln kann, außerhalb deren es aber zur Bildung pathologischer Formen oder zum Untergange kommt. Inwieweit dann bei krankhafter Entwicklung noch eine Fortpflanzung unter Erzeugung wieder normaler Früchte möglich ist oder es zur Entstehung fortpflanzungsfähiger „pathologischer Rassen“ kommt, von denen man jetzt häufiger in der menschlichen Konstitutionspathologie spricht, hängt von der Schwere der Schädigung ab.

Will man experimentelle Beweise für die Wirkung der äußeren Lebensbedingungen auf die individuelle Entwicklung verlangen, so genügt es, aus ihrer Fülle vielleicht besonders im Hinblick auf unsere zu besprechenden Untersuchungen die Versuche *Fischers*<sup>1)</sup> und *Stand-*

---

<sup>1)</sup> *Fischer*, Transmutation der Schmetterlinge infolge Temperaturveränderungen. Experimentelle Untersuchungen über die Phylogenese der Vanessen. Berlin 1895. — Experimentelle Untersuchungen über die Vererbung erworbener Eigenschaften. Allg. Zeitschr. f. Entomol. **6/7**. 1901/02.

*fuß*<sup>1)</sup> an Schmetterlingen, vor allem aber die *Towers*<sup>2)</sup> am Koloradokäfer (*Leptinotarsa*) anzuführen, die bekanntlich im Hinblick auf die Vererbung erworbener Eigenschaften lebhaft erörtert worden sind. Andere Versuche z. B. von *Kammerer*, *Hertwig* und *Adler* beanspruchen deshalb unser besonderes Interesse, weil sie an Tieren mit endokrinen Organen angestellt worden sind, die ja im Brennpunkte unserer Betrachtungen stehen.

Aber auch die Phylogenese, das „Werden der Organismen“, kann sich nur unter dem Einfluß der äußeren Lebensbedingungen vollzogen haben. Jene Erbfaktoren, die ganze Erbmasse in ihrer unübersehbaren Verwickeltheit, von denen in erster Linie die Entwicklung des Individuums abhängt, sind alle erst entstanden zu denken unter äußeren Bewirkungen. Es wird sich in Zukunft immer deutlicher zeigen, d. h. streng wissenschaftlich beweisen lassen, daß die Idiomutationen auf äußere Einflüsse zurückgehen, wie sprunghaft sie uns oftmals auch erscheinen mögen. Stellen wir uns dann aber vor, daß die Selektion, dieser zweite wichtige Entwicklungsfaktor in der Phylogenese, der Festigung des Neugewordenen, seiner Nutzbarmachung für die Art selbst und damit der Weiterentwicklung der Arten dient, so ergibt sich die große Bedeutung, die namentlich der Häufigkeit der Mutation zukommt. Über diese schrieb soeben *Morgan*<sup>3)</sup>: „Die Entdeckung neuer Mutantentypen bei fast jeder Pflanze und jedem Tier, das sorgfältig untersucht wurde, weist doch auf das sehr allgemeine Vorkommen mutativer Veränderungen hin, und die große Mannigfaltigkeit der Typen, die wir bei fast allen unseren Haustieren und Kulturpflanzen finden — Varietäten, die den *Mendelschen* Gesetzen folgen — scheint eine weitere Bestätigung der Anschauung zu liefern, daß der Mutationsprozeß weitverbreitet ist.“ Dabei ist es in hohem Grade beachtenswert, daß die gleiche Mutation wiederholt und gleichzeitig in der Mehrzahl auftreten kann, aber leider ist die Erforschung der Erscheinung deshalb äußerst erschwert, weil die Mutation, wenn die mutierten Gene recessiv sind, einige Generationen früher, als sie in Erscheinung tritt, sich abspielt. Wie aber gesagt, stehen alle diese Vorgänge im wesentlichen unter dem Einfluß äußerer Wirkungen, die somit das treibende Moment in der Phylogenese sind. Auch heute noch! Denn die Lebensbedingungen der Umwelt wirken fort und fort auf die Organismen und so müssen und können wir uns auch den Menschen mitten drin stehend in der Phylogenese denken und es ist falsch,

<sup>1)</sup> *Standfuß*, Experimentelle zoologische Studien an Lepidopteren. Denkschr. d. Schweiz. naturf. Gesellsch. 36. Basel 1898.

<sup>2)</sup> Siehe *O. Hertwig*, Das Werden der Organismen. 2. Aufl. Fischer, Jena 1918.

<sup>3)</sup> *Morgan*, Die stoffliche Grundlage der Vererbung. Deutsch von Nachtheim. Bornträger, Berlin 1921.

ihn als artfest zu bezeichnen (*Martius*<sup>1</sup>). Freilich sind wir nicht in der Lage, in der kurzen überblickbaren Zeitspanne des historischen Menschen etwas von einer phylogenetischen Veränderung seines Organismus wahrzunehmen, auf die uns dennoch viele Befunde hinweisen. Progressive Variationen, wie wir sie beispielsweise von *Ruge*<sup>2</sup>) betont finden, sind aber etwas ganz anderes als ganze individuelle Erscheinungsformen, die man unberechtigterweise unter periodischen äußeren Einflüssen sich entstanden denken wollte.<sup>3</sup>)

Wie in der vorhergehenden Abhandlung darzutun versucht worden ist, wirken die äußeren Lebensbedingungen durch die Vermittlung der endokrinen Organe auf den Organismus, indem sich gewissermaßen die äußeren Kräfte in innere umwandeln und damit spezialisieren. Daraus läßt sich für die ontogenetische Entwicklung des einzelnen Individuums wie auch für die Phylogenese, die Einpassung der Organismen in die Umwelt und damit die Beständigkeit und Erhaltung der Arten, die ungeheure Bedeutung des endokrinen Systems ableiten, von der wir erst neuerdings eine rechte Vorstellung zu gewinnen beginnen.

Auch der Mensch läßt uns deutlich den Einfluß der äußeren Lebensbedingungen auf die Funktion der endokrinen Organe und deren Auswirkung in mannigfachen Störungen morphologischer und funktioneller Natur erkennen. Sehen wir ab von der nach meiner Überzeugung im Grundgedanken richtigen, aber der Stütze eines strengen Beweises zurzeit noch ganz entbehrenden, auch zu sehr schematisierten Ansicht des bekannten englischen Anatomen *Keith*<sup>4</sup>) über die Bedeutung der endokrinen Organe für die Entstehung der menschlichen Rassen, lassen wir auch die Erfahrungen über den endemischen Kropf aus dem Spiele, die sich durchaus im Sinne der Bildung einer pathologischen Lokalrasse unter äußeren, die Schilddrüsenfunktion störenden Einflüssen verwerten lassen, so sind namentlich während des Krieges und der ihm noch folgenden Hungerzeit gesammelte Beobachtungen anzuführen. Für die Wissenschaft dürfen natürlich nur strenge Beweise gelten. Es ist in der Tat nichts weiter als eine Vermutung, wenn *v. Hentig*<sup>5</sup>) in einer geistreichen kleinen Studie über den

<sup>1</sup>) *Martius*, Pathogenese innerer Krankheiten. Deuticke, Wien 1899—1908. — Konstitution und Vererbung in ihren Beziehungen zur Pathologie. Verlag von Julius Springer, Berlin 1914.

<sup>2</sup>) *Ruge*, Die Körperformen des Menschen in ihrer gegenwärtigen Abhängigkeit und ihrem Bedingtesein durch den aufrechten Gang. Engelmann, Leipzig 1913.

<sup>3</sup>) *Albu*, Die Bewertung der Visceralptose als Konstitutionsanomalie. Berl. klin. Wochenschr. 1909, S. 225.

<sup>4</sup>) *Keith*, On the differentiation of mankind into racial types. Lancet 1919, Nr. 5013.

<sup>5</sup>) *v. Hentig*, Über den Zusammenhang von kosmischen, biologischen und sozialen Krisen. Mohr, Tübingen 1920.

Zusammenhang von kosmischen, biologischen und sozialen Krisen zu der Annahme kommt, „daß möglicherweise unter dem Einfluß gewaltiger physikalischer Agentien, deren spezifischer Effekt sich nicht nur aus dem Grade ihrer Stärke, sondern auch aus einer gewissen Dauer der Einwirkung erklärt, unter dem Anstoß atmosphärischer und tellurischer Umwälzungen, sowohl für biologische wie für die gemeinsame Gruppe der politischen, sozialen und religiösen Krisen Störungen innersekretorischer Natur als gemeinsame Ausgangspunkte anzunehmen sind“. Wichtiger erscheinen dem gegenüber folgende Angaben. *Curschmann*<sup>1)</sup> und *Hinz*<sup>2)</sup> haben über Erscheinungen des Hypothyreoidismus infolge der qualitativ unzureichenden Kriegsernährung berichtet. Wiederholt hat man auch auf Beziehungen der Ödemkrankheit zu Störungen der Schilddrüsenfunktion hingewiesen und von jenen Fällen leichten Myxödems bis zu dieser tödlichen Stoffwechselstörung alle möglichen Übergänge angenommen. Weiter hat *Sehrt*<sup>3)</sup> auf die Schädigung der Schilddrüse und Nebenniere nicht nur beim Menschen, sondern auch bei unseren Haustieren unter der Hungersnot hingewiesen und darauf aufmerksam gemacht, daß die Ausbeute der chemischen Industrie an Adrenalin aus den Nebennieren und an genügend jodhaltigen Präparaten aus der Schilddrüse schließlich so geringfügig wurde, daß sich diese Herstellung nicht mehr lohnte. Endlich habe ich selbst eben eine Abhandlung über den Adrenaliningehalt der menschlichen Nebennieren veröffentlichen lassen<sup>4)</sup>, aus der sich eine durchschnittliche Verminderung des Adrenalins um ein Drittel des Normalwertes unter der Wirkung der Hungerszeit ergeben hat.

Zweifellos muß man auch die Mitteilungen *Moros*<sup>5)</sup> über die krankhafte Zunahme der Erregbarkeit des vegetativen Nervensystems im Frühjahr und die *Bettmanns*<sup>6)</sup> über die im Frühjahr eintretende Häufung gewisser Dermatosen, deren Beziehungen zum endokrinen

<sup>1)</sup> *Curschmann*, Hypothyreoidismus und Konstitution. D. Zeitschr. f.ervenheilk. 68/69. 1921.

<sup>2)</sup> *Hinz*, Kriegsernährung und Hypothyreoidismus. Med. Klinik 1920, Nr. 12, S. 313.

<sup>3)</sup> *Sehrt*, Blockade und innere Sekretion. Münch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 9, S. 268.

<sup>4)</sup> *Peiser*, Über die Beziehungen der Hungerblockade zur Funktion der Nebennieren. Münch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 7, S. 251. — Störungen der Adrenalinbildung in den Nebennieren unter äußeren Einflüssen und ihre biologische Bedeutung. Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **27**, 234. 1922.

<sup>5)</sup> *Moro*, Über den Frühlingssgipfel der Tetanie. Münch. med. Wochenschr. 1919, Nr. 45, S. 1281. — Übererregbarkeit des vegetativen Nervensystems im Frühjahr und Ekzemtod. Münch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 23, S. 657.

<sup>6)</sup> *Bettmann*, Über jahreszeitliche Schwankungen von Hautkrankheiten. Münch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 23, S. 656.

System eben wahrscheinlich zu werden beginnen<sup>1)</sup>, hier anführen. Äußert sich *Bettmann* nur unbestimmt und allgemein dahin, „daß die Gesamtheit der kosmisch-meteorologischen Bedingungen im Frühjahr in kompliziertester Weise den menschlichen Organismus beeinflusst und labilisierende und sensibilisierende Wirkungen ausübt“, was im Grunde nichts Neues besagt, so faßt *Moro* den Kern der Sache in folgende Worte zusammen: „Der Frühling ist die Zeit der inneren Sekretion.“ Von der Richtigkeit dieses Satzes ist wohl jeder überzeugt, der das Geschlechtsleben der Tiere ins Auge faßt. Hier sehen wir deutlich die wechselnde Einstellung des endokrinen Systems je nach der Jahreszeit.

Die experimentelle Erforschung des Einflusses äußerer Lebensbedingungen auf die endokrinen Organe kann natürlich mit einem so komplexen Begriff, wie ihn das Wort „Klima“ ausdrückt, nicht arbeiten. Will man etwa seine jahreszeitlichen Schwankungen nachahmen, so wird man stets auf Teilwirkungen zurückgehen müssen. Um mit den Worten *Lotzes*<sup>2)</sup> zu reden: es gilt die einzelnen Bedingungen, von denen die Erfolge abhängen, zu ermitteln und sich nicht mit schönen poetischen Beschreibungen atmosphärischer Einflüsse auf den Organismus zu begnügen, die bestenfalls in bequemer hippokratischer Betrachtungsweise ganz allgemein einen ganzen Komplex von Erscheinungen richtig darstellen.

Einer der wichtigsten Faktoren des Klimas ist die Temperatur der Außenwelt, unter der ein Organismus lebt. Seine Bedeutung läßt sich auch am leichtesten im Versuch untersuchen, ohne daß es aber ganz gelingt, seine Wirkungen von denen anderer Faktoren, wie z. B. des Feuchtigkeitsgehaltes der Luft mit unbedingter Sicherheit zu trennen. Das ist ja auch aus den Beobachtungen des Lebens in der freien Natur wohlbekannt. Ein heißer trockener Sommer oder kalter trockener Winter besitzt eine ganz andere Bedeutung beispielsweise wie ein heißer feuchter Sommer oder kalter feuchter Winter. Daher braucht auch in den von mir angestellten Temperaturversuchen, die den Einfluß äußerer Lebensbedingungen auf die endokrinen Organe warmblütiger Wirbeltiere zeigen sollen, keineswegs die Wirkung verschiedener Temperatur ausschließlich gefunden zu sein, vielmehr will ich es ausdrücklich dahingestellt sein lassen, ob etwa noch andere Faktoren bei den Veränderungen mitgewirkt haben. Hierüber werden fortgesetzte Untersuchungen Aufschluß geben. Es ist aber doch wohl die Bedeutung des Temperatureinflusses als so wesentlich anzusehen, daß andere Faktoren zunächst wenigstens bei den folgenden Betrachtungen vernachlässigt werden können.

<sup>1)</sup> *Brock*, Thymus und Hautkrankheiten. Strahlentherapie **11**, 2. 1920.

<sup>2)</sup> *Lotze*, Allgemeine Pathologie und Therapie als mechanische Naturwissenschaften. Weidmann, Leipzig 1848.

Ich benutzte zu meinen Versuchen graue Hausmäuse, die zunächst bei Zimmertemperatur gehalten wurden. Die zu den Wärmeversuchen benutzten Tiere wurden vorher einige Tage lang in großen Glasgefäßen auf den Brutschränken gehalten. Die abnorme Temperatur betrug in den Versuchen 32—40° C. Die Mäuse wurden nach verschiedenen langer Zeit getötet oder unter der abnormen Wärmewirkung belassen, bis sie von selbst starben. Als Nahrung diente möglichst oft angefeuchtetes Brot. Die abnorme Kältetemperatur betrug 4—7° C.; die Mäuse wurden ihr ohne besondere Vorbereitung unterworfen.

Die Wirkung der verschiedenen abnormen Temperaturen auf die Schilddrüse war eine sehr auffällige und charakteristische. Der Befund



Abb. 1. Hochgradige funktionelle Atrophie mit völligem Kolloidmangel in der Schilddrüse der grauen Hausmaus bei langdauernder Wirkung hoher Wärme.

war stets der gleiche, wenn auch unverkennbar individuelle Unterschiede in der Stärke der Veränderungen festzustellen waren. Mit wenigen Worten ist das Wesentliche gesagt. So findet sich beispielsweise bei einer Maus, die 38 Tage lang bei hoher Temperatur gehalten wurde, die Schilddrüse stark verkleinert (Abb. 1), mit entweder ganz zusammengesunkenen oder nur ein enges spaltförmiges Lumen

zeigen den Follikeln, die nirgends mehr eine Spur von Kolloid enthalten. Nur hier und da sind äußerst geringfügige Mengen einer feinkrümeligen Masse im Follikellumen zu finden. Die Epithelien sind kubisch, rötlich durch Eosin gefärbt, mit zentral gelegenen runden und dunklen Kern. Das Zellprotoplasma erscheint auch bei starker Vergrößerung homogen und läßt nur einige ganz vereinzelte kleinste Vakuolen erkennen. Hingegen zeigt eine andere Maus, die nur wenige Tage unter dem Einfluß abnorm hoher Temperatur gestanden hat, anstelle der welken, unregelmäßigen und dicht beisammenliegenden leeren Follikel zwar noch voll entfaltete Follikel mit einem hellen kubischen Epithel, aber auch hier fehlt die gleichmäßige Kolloidfüllung, statt deren

sich eine mit Eosin blaßrot färbende krümelig-fädige Masse findet, die nirgends das Lumen ausfüllt, sondern teils als halbmondförmiger Saum der Wand anhaftet, teils sich auch etwas mehr ausbreitet, während andererseits manche Follikel schon ganz leer sind (Abb. 2). Über dieses Bild finden sich alle Übergänge von der normalen Schilddrüsenstruktur zu jener erst beschriebenen hochgradig atrophischen je nach der Dauer des Versuches.

Wie ganz anders zeigt sich hingegen die Schilddrüse einer lange bei abnorm niedriger Temperatur gehaltenen Maus. Hier sehen wir die Follikel prall gefüllt mit einem Kolloid, daß sich färberisch vom Fol-

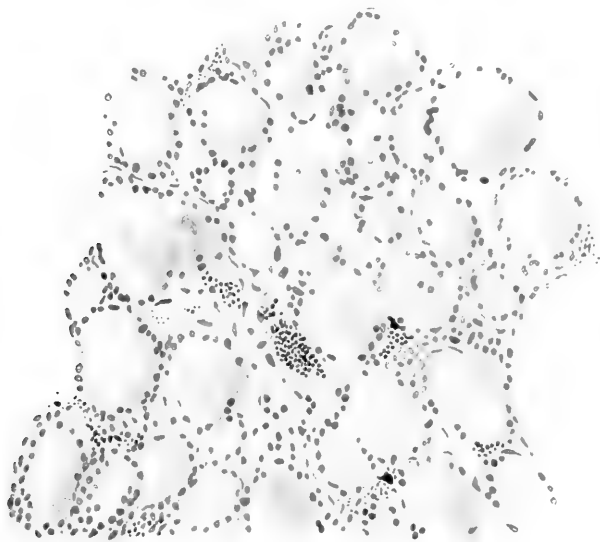


Abb. 2. Herabsetzung der Funktion und Kolloidschwund in der Schilddrüse der grauen Hausmaus bei Wirkung hoher Wärme.

likelinhalt normaler Schilddrüsen durch einen dunkleren Farbenton und größere Dichte unterscheidet (Abb. 3). Die kubischen Epithelien enthalten massenhaft Sekretvakuolen, das Kolloid liegt der Oberfläche des Epithelsaumes so eng an, daß die Zellgrenzen vielfach mit dem Follikelinhalt verschwimmen. Bei starker Vergrößerung zeigt das Kolloid eine ganz feinschaumige Beschaffenheit.

Die unter der abnormen Temperaturwirkung entstandenen Veränderungen der Schilddrüse sind ausgleichbar und umkehrbar. Bringt man die Mäuse wieder unter den Einfluß normaler Temperaturen, so bildet sich stets wieder das histologische Bild aus, wie es sonst gewöhnlich entgegentreitt und deshalb als normal bezeichnet werden kann. Andererseits zeigen Kältemäuse, die sich übrigens den Versuchsbedingungen gegenüber widerstandsfähiger als Wärmemäuse erweisen, nach

Verbringung unter abnorm hohe Temperatur und umgekehrt Wärmemäuse unter der Wirkung abnormer Kälte ein histologisches Schilddrüsenbild entsprechend der letzten Temperaturwirkung, sofern diese nachhaltig genug gewesen ist.

Was geht aus diesen Beobachtungen hervor? Wir sehen, daß gesetzmäßig bei Hitzewirkung die Schilddrüse atrophiert, während sie umgekehrt bei Kältewirkung eine unverkennbar gesteigerte Funktion aufweist. Unter dem Einfluß der in der Umgebung der Tiere herr-

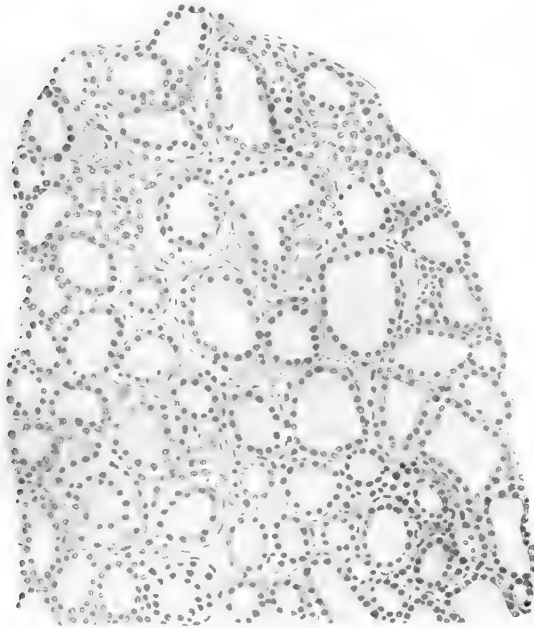


Abb. 3. Gesteigerte Funktion in der Schilddrüse der grauen Hausmaus bei dauernder Kältewirkung.

scheidenden Temperatur stellt sich also die Schilddrüsenfunktion in bestimmter Weise ein, und zwar derart, daß die Funktionsänderung auch histologisch zu recht charakteristischem Ausdrucke kommt. Die gewählten abnormen Temperaturen, unter denen die Hausmaus höchstens ganz vorübergehend einmal unter natürlichen Verhältnissen zu leben kommt, sind also extrem genug, um sehr beträchtliche Schwankungen der Schilddrüsenfunktion zu bedingen. Doch zeigt der

letzteren Ausgleich- und Umkehrbarkeit, daß es sich noch nicht um dauernde Schädigungen handelt, sondern wohl gerade noch um die Grenzen der physiologischen Einstellung, die sich fortwährend in kleinsten Schwankungen abspielt und der Regulation der wichtigsten Lebensvorgänge dient. Der spontane Tod der Hitzemäuse hängt nach meinen Feststellungen wesentlich mit den Störungen des Wasserhaushaltes zusammen.

Äußere Umweltwirkungen, wie in unseren Versuchen die abnormen Temperaturen, wirken also auf die Einstellung der Schilddrüse und durch deren regulatorische Tätigkeit weiterhin auf den Gesamtorganismus, auf dessen Einpassung in veränderliche Lebensbedingungen. Wenn wir uns der hohen Bedeutung erinnern, die der Schilddrüsenfunktion



für den Stoffwechsel und insbesondere den Wärmehaushalt des Körpers zukommt<sup>1)</sup>, so ergibt sich ohne weiteres aus den geschilderten Versuchsergebnissen, daß bei dauernd hoher Wärmewirkung die Atrophie der Schilddrüse mit ihrer Hemmung der spezifischen Hormonbildung der Herabsetzung des gesamten Stoffwechsels und der Wärmebildung dient, während die Steigerung ihrer Funktion bei langwährender Kältewirkung den Stoffumsatz erhöht und der Anforderung erhöhter Wärmebildung gerecht wird.

Sowohl die tatsächlichen Versuchsergebnisse als auch die aus ihnen gezogenen Folgerungen finden eine wertvolle Ergänzung und Stütze in den schönen Untersuchungen *L. Adlers*<sup>1)</sup> an der Schilddrüse winterschlafender Tiere wie der Fledermaus und des Igels. Bei den Fledermäusen ergaben sich während des Winterschlafes histologisch die verschiedensten Grade einer regressiven Umwandlung der Schilddrüse. Es fanden sich alle Übergänge von leicht atrophischen Schilddrüsen zu solchen, bei denen die Rückbildung fast einer völligen Zerstörung gleichkam. Gegen das Frühjahr sah man zahlreiche neugebildete Follikel, und während im Sommer die Schilddrüse ein ganz normales Verhalten darbot, zeigten sich im Herbst, oft schon vor Eintritt des Winterschlafes, die ersten Merkmale der beginnenden Atrophie. Bei Igeln waren die Veränderungen während der verschiedenen Jahreszeiten weniger auffallende. Im Winter zeigten sich die Follikel epithelien niedrig, fast platt, im Frühjahr hochkubisch bis zylindrisch. Das Kolloid war im Winter fast in allen Follikeln gerbsäurefest, im Frühjahr hingegen vorwiegend fuchsinophil, im Sommer aber fanden sich nebeneinander Follikel mit bald der einen, bald der anderen Art von Kolloid, wie es nach der Vorstellung von *Kraus*<sup>2)</sup> beim Menschen dem normalen Verhältnis entspricht.

Gehen schon aus diesen histologischen Verhältnissen mit größter Wahrscheinlichkeit Beziehungen der Schilddrüsenfunktion zum Wach- und Schlafzustand der Winterschläfer hervor, so ist dies durch Versuche *Adlers* (a. a. O.) völlig sichergestellt. Wenn er nämlich winterschlafenden Igel Schilddrüsenextrakt einspritzte, so stellte sich sehr bald eine starke Zunahme der Atemtätigkeit ein und unter schnellem Ansteigen der Körpertemperatur erwachte das Tier und lief munter umher. *Adler* hat dann weiterhin nachgewiesen, daß das Schilddrüsensekret nicht die Erregbarkeit des Wärmezentrums, seinen „Tonus“,

<sup>1)</sup> *Adler*, Schilddrüse und Wärmeregulation (Untersuchungen an Winterschläfern). Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **86**, 159. 1920. — Über den Angriffspunkt der Blutdrüsenhormone bei der Wärmeregulation. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **87**, 406. 1920.

<sup>2)</sup> *Kraus*, Das Kolloid der Schilddrüse und Hypophyse des Menschen. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **218**, 1912.

reguliert, sondern an den peripherischen Stätten des Verbrauchs die Oxydationsprozesse anregt oder sie vielleicht überhaupt erst möglich macht. Indem *Adler* es für möglich hält, daß die endokrinen Organe verschiedene Stoffe für die einzelnen Verbrennungsvorgänge liefern und daß beispielsweise die Schilddrüse den Eiweißverbrauch, das Adrenalsystem hingegen den Zuckerverbrauch regelt, sagt er: „Der Winterschlaf ist eine Folge einer Hypofunktion der Schilddrüse und wahrscheinlich auch der Hypophyse und der Nebennieren.“ Aber nur der erste Teil dieses Satzes ist vorerst als sicher bewiesen zu betrachten, so richtig es auch sein wird, daß bei der innigen Zusammenarbeit des endokrinen Systems auch noch andere endokrine Organe in den Bereich der Betrachtung zu ziehen sind. Man muß sich offenbar vorstellen, daß bei den Winterschläfern infolge einer Atrophie der Schilddrüse im Herbst die gesamten Oxydationsprozesse zurückgehen und daß dadurch der Schlafzustand hervorgerufen wird. Die durch die Hemmung der Schilddrüsenfunktion bedingte mehr oder weniger erhebliche Einschränkung des Stoffverbrauches ermöglicht ein langes Haushalten mit den aufgespeicherten Brennstoffen, bis im Frühjahr mit der Regeneration der Schilddrüsenfollikel und der Neubelebung ihrer Funktion eine regere Lebenstätigkeit wieder erwacht. Ist aber somit die Regulation wichtiger Lebensvorgänge des Organismus von dem Wechsel der Schilddrüsenfunktion abhängig, so darf weiterhin mit großem Nachdruck darauf hingewiesen werden, daß zweifellos dieser Funktionswechsel seinerseits abhängig von mindestens einem Faktor atmosphärischer Einflüsse ist, nämlich von der in der Umgebung herrschenden Außentemperatur, wie meine Versuche deutlich gezeigt haben. In diesem Sinne sehen wir also den Satz durchaus bewiesen, daß äußere Einflüsse durch Vermittlung der endokrinen Organe auf den Körper wirken, daß eine Umformung äußerer Kräfte in innere stattfindet.

Der Gegensatz der Versuchsergebnisse bei der grauen Hausmaus und den Fledermäusen bzw. bei dem Igel ist lediglich als ein scheinbarer anzusehen. In Wahrheit handelt es sich um den Ausdruck der besonderen Einpassung der Arten in die Umwelt, die sich in der erblich fixierten besonderen Einstellung des endokrinen Systems zeigt. So kann im Grunde auch das negative Ergebnis der Schilddrüsenfütterungsversuche, die *Romeis* und *v. Dobkiewicz*<sup>1)</sup> mit der Schmeißfliege (*Calliphora vomitoria*) anstellten, nicht überraschen. Insekten und Wirbeltiere sind doch gar zu verschieden organisiert und in die

<sup>1)</sup> *Romeis* und *v. Dobkiewicz*, Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von Wirbeltierhormonen auf Wirbellose. I. Der Einfluß der Schilddrüsenfütterung auf Entwicklung und Wachstum der Schmeißfliege (*Calliphora vomitoria*). Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **47**, 119. 1920.

Umwelt eingepaßt, als daß man bei ihnen ohne weiteres gleiche Wirkungen der Schilddrüsensubstanz voraussetzen darf. Die graue Maus braucht in gleicher Weise Schutz gegen zu große Wärme wie Kälte unter Aufrechterhaltung eines physiologischen Optimums der Oxydationsprozesse und Wärmebildung. Das endokrine System, insbesondere die Schilddrüsentätigkeit, ist eingestellt für eine dauernde rege Lebenstätigkeit des ganzen Organismus in Sommer und Winter, wenn auch sie natürlich gewisse Schwankungen aufweist. Es wird also bei Wärme die Schilddrüse schwächer, bei Kälte stärker funktionieren, um ein gewisses Gleichmaß aufrechtzuerhalten. Bei den Winterschläfern hingegen kommt für die Erhaltung des Lebens mehr oder weniger viel darauf an, daß sie die kalte, nahrungsarme Jahreszeit gut überstehen, die Einpassung in die Lebensbedingungen ist erfolgt durch eine besondere Einstellung der Schilddrüse — um diese allein ins Auge zu fassen —, die umgekehrt wie bei anderen Tieren unter der Kältewirkung atrophisch wird und unter Herabsetzung oder völliger Hemmung ihrer Funktion den der Erhaltung des Individuums wie der Art günstigen Schlafzustand herbeiführt.

Ebensowenig wie die Schilddrüse das einzige endokrine Organ ist, das in bestimmter Weise auf äußeren Einfluß reagiert, ist dieser selbst übrigens immer einer und derselbe. Nur kurz will ich darauf hinweisen, daß man eine Degeneration der Schilddrüse auch durch einseitige Ernährung der Mäuse beispielsweise mit Mehl erzeugen kann, worauf schon *Watson*<sup>1)</sup> hingewiesen hat. Ich habe darüber mancherlei Beobachtungen gesammelt<sup>2)</sup>. Auch *Abderhalden*<sup>3)</sup> weist neuerdings wieder mit Nachdruck auf die Feststellung hin, daß eine einseitige reizlose Nahrung zu schwerster Schädigung des Organismus führen kann und namentlich auch Unfruchtbarkeit der Versuchstiere bedingt. Er berichtet von Versuchen an Ratten, die als Nahrung entweder Bohnen oder Erbsen oder Reis oder Lupinen usw. erhielten. Alle Tiere verfielen einer schweren Entartung und büßten ihre Fortpflanzungsfähigkeit ein. Gelang es noch in den ersten Wochen der einseitigen Ernährung Nachkommenschaft zu erzeugen, dann war diese minderwertig und die geworfenen Jungen starben gewöhnlich schon innerhalb der ersten zehn Tage nach der Geburt, niemals blieben sie aber am Leben. Im Hinblick auf meine späteren Angaben über die Degeneration der Hoden ist es schade, daß *Abderhalden* offenbar keine mikroskopische Untersuchung der endokrinen Organe seiner Versuchstiere vorgenommen hat.

1) *Watson*, Journ. of exp. physiol. 5, 239. 1913.

2) *Hart*, Zum Wesen und Wirken der endokrinen Drüsen. Berl. klin. Wochenschr. 1921, Nr. 21, S. 533.

3) *Abderhalden*, Neuere Untersuchungen über das Wesen und die Bedeutung der Nutramine (Vitamine). Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 4, S. 160.

In einem früheren kleinen Aufsätze habe ich (a. a. O.) die regulatorische Tätigkeit der endokrinen Organe unter dem Einfluß äußerer Bewirkungen in Beziehung gebracht zu dem von Roux geschaffenen Begriff der Selbstregulation, die uns als eine Grundeigenschaft der elementaren lebendigen Substanz gilt und schon mehr als einmal als das Wesen des Lebens selbst bezeichnet worden ist. Diese Selbstregulation im elementaren Leben der Zelle spielt sich aber nur unter der Wirkung äußerer Einflüsse ab, ist die Antwort der reaktionsfähigen lebendigen Substanz auf die mannigfachsten Reize. Wollen wir das Leben eines höher organisierten Individuums als die Summe unzähliger ständiger, der Aufrechterhaltung eines Gleichgewichtszustandes dienender Reaktionen auf äußere Einwirkungen bezeichnen, so müssen wir auch Klarheit darüber zu gewinnen suchen, auf welchem Wege die auslösenden Reize an die Zellen herantreten und wie bei deren tausendfältiger Differenziertheit eine dauernde Harmonie sich ergibt. Die in der Funktion der endokrinen Organe gegebene innige chemische Korrelation mit ihrer Abhängigkeit von äußeren Einflüssen einerseits, ihrer Beherrschung der wichtigsten Lebensfunktionen, ihrer Wirkung durch die Körpersäfte auf alle Elemente des Organismus andererseits läßt uns jene Harmonie verstehen. Es ist, als habe sich der Organismus mit zunehmender Kompliziertheit ein besonderes System schaffen müssen (natürlich nicht in teleologischem Sinne), das als ein übergeordnetes Reaktionsgebiet auf äußere Reize die Eigenschaft der Selbstregulation besitzt und für das Ganze und seine Funktionen wirksam werden läßt, ohne daß die äußeren Reize notwendigerweise unmittelbar auf die einzelne Zelle wirken müssen.

Immer wieder zeigt die Betrachtung, daß die Umwandlung äußerer Kräfte in innere durch das endokrine System einer von diesem ausgehenden und beherrschten Regulation des Organismus dient, durch die offenbar eine Einpassung des Organismus in die Lebensbedingungen seiner Umwelt gewährleistet wird. Damit ist ein überaus wichtiges Moment für die Entstehung der Arten und Rassen in der Phylogenese gegeben. Ich zweifle nicht an der Berechtigung des Satzes, daß alle Lebens- und Entwicklungsmöglichkeit der Wirbeltiere in dem Gesetz der Umwandlung äußerer Kräfte in innere durch das endokrine System begründet liegt. Die Einpassung der Individuen in nicht allzu jäh sich ändernde Lebensbedingungen läßt sich so gut verstehen, während die Selektion zwar nicht als Neues schaffender, wohl aber als Neues erhaltender Faktor in voller Bedeutung anerkannt werden kann. Dabei bleibt freilich noch die Frage endgültig zu lösen, in welcher Weise sich der mit der Einpassung des Organismus in veränderte Lebensbedingungen verbundene Neuerwerb von Eigenschaften oder Reaktionsweisen auf die Nachkommenschaft überträgt.

Einem Verständnis näher führen uns vielleicht die Beobachtungen, die sich weiterhin bei den beschriebenen Temperaturversuchen ergeben haben. Es fanden sich nämlich sehr merkwürdige, wenngleich nicht bei allen Tieren gleich ausgeprägte Veränderungen in den männlichen Keimdrüsen, die etwas eingehender geschildert werden müssen.

Bei einer nur fünf Tage unter hoher Außentemperatur gehaltenen Maus zeigen die Kanälchen des Nebenhodens ein schön ausgebildetes, durchaus normales Epithel, aber im Lumen finden sich neben massenhaften normalen Spermien zahlreiche unreife ein- und mehrkernige Zellen mit erheblichen Größenunterschieden und ferner viele blaßrötlich gefärbte kernlose Zellschatten. Schon dieser Befund weist auf

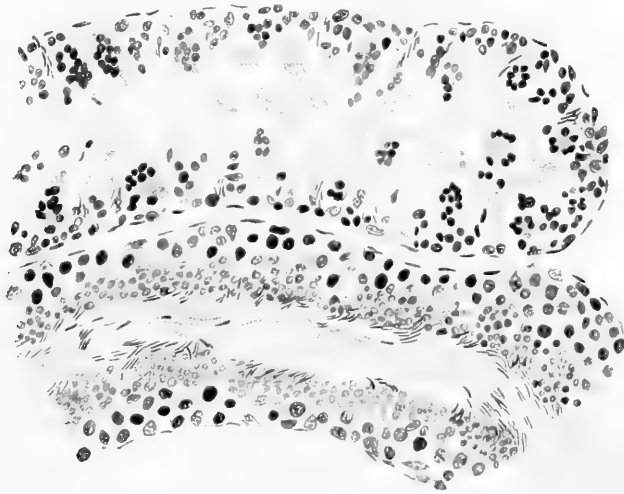


Abb. 4. Atrophie der samenbildenden Epithelien im Hoden der grauen Hausmaus bei Wirkung hoher Wärme. Während das eine Kanälchen noch normale Verhältnisse zeigt, ist das andere bereits schwer geschädigt.

eine Schädigung des Hodens hin. An ihm (Abb. 4) erkennt man demgemäß schon bei schwacher Vergrößerung ein sehr ungleichmäßiges Verhalten der Samenkanälchen. Zwar sind alle voll entfaltet und umgrenzt von einer zarten Basalmembran, aber in unmittelbarem Nebeneinander sieht man Kanälchen mit lebhafter Spermio-genese und solche, in denen sie fast ganz oder ganz aufgehoben ist, wobei neben dem Schwund der samenbildenden Zellen besonders zahlreiche große Riesenzellen auffallen. Kanälchen letzterer Art liegen namentlich an der Peripherie unter der fibrösen Hodenkapsel, doch besteht keineswegs etwa ein scharfer Gegensatz zwischen zentralen normalen und peripherischen veränderten Kanälchen, da sich sowohl an der Peripherie in manchen Kanälchen lebhaft Spermio-genese, andererseits in zentralen eine schwere Degeneration feststellen läßt.

Was zunächst die besser erhaltenen Kanälchen anbelangt, so zeigen auch diese zumeist bei starker Vergrößerung nicht mehr ganz normale Verhältnisse. Bei guter Erhaltung der einzelnen Schichten samenbildender Zellen, von denen sich gegen das Lumen ein Kranz wohlausgebildeter Spermien löst, fällt vielfach der Mangel aller Kernteilungsfiguren auf, während zwischen den Spermatozyten und Spermatischen bereits große runde Riesenzellen mit wechselnd zahlreichen, zum Teil sehr vielen Kernen und einem eigenartig schaumig vakuolisierten Protoplasma auftauchen. Die gleiche nur weniger ausgeprägte Protoplasmaänderung läßt sich aber auch an den innersten Lagen einkerniger Zellen, also der Spermatischen, feststellen, zwischen denen zugleich rötliche runde Schatten von Zell-, vielfach aber auch nur Kerngröße wahrzunehmen sind, wie sie sich auch im Lumen der Kanälchen reichlich inmitten des zumeist dichten fädigen Inhaltes finden. Es ist also eine Degeneration der Spermatischen, teilweise auch der Spermatozyten vorhanden, die von dem an sich noch nicht viel besagenden Aufhören der Teilungsvorgänge und Spermienbildung sich bis zur Zellnekrose steigert, während die Spermatoγονien unversehrt sind und noch Kernteilungen erkennen lassen. In manchen Kanälchen ist die Degeneration schon weiter vorgeschritten. Zwar finden sich in ihnen immer noch in Loslösung begriffene normal gebildete Spermien, aber fast die Gesamtheit der Spermatischen und auch der Spermatozyten ist der Degeneration verfallen und in kernlose Schollen umgewandelt, wobei es ganz an Riesenzellen fehlen kann. Man gewinnt den Eindruck, als habe sich der Degenerationsprozeß in diesen Kanälchen stürmischer als in den vorerwähnten abgepielt, indem besonders auch die Kernteilungen schnell unterdrückt und damit die Bildung von Riesenzellen verhindert worden sei. Zwischen den Bildern nach unserer Auffassung langsamerer Zelldegeneration mit Bildung von Riesenzellen und solchen schnellen Zellunterganges finden sich alle nur möglichen Übergänge. Der Schwund der Spermien geht im allgemeinen dabei dem Grade der Zellschädigung parallel, während die schaumig-vacuoläre Protoplasmabeschaffenheit der untergehenden oder dem Untergange geweihten Elemente im wesentlichen in den Kanälchen stärker ausgesprochen ist, die das Bild einer langsameren Entartung aufweisen.

In letzteren Kanälchen kann man zweifellose Bilder einer gestörten Spermienbildung wahrnehmen. Zunächst finden sich in Spermatozyten mit unverkennbarer Protoplasmaschädigung und bereits eingeleitetem Untergang noch Kernteilungsfiguren, die durch die Verklumpung und auch durch Abspaltung von Chromosomen auffallen. Zwischen den teilweise noch gut erkennbaren, teilweise in rote Schollen umgewandelten Spermatischen liegen weiterhin kleine runde oder an-

deutungsweise ovale pyknotische Kerne, dann mehr spindlig ausgezogene, den Spermien ähnelnde Kerne und dann auch solche, die ihnen zwar völlig in der Form gleichen, aber ganz erheblich größer sind. Die Chromatinmasse ist in solchen Kernen vielfach sehr ungleichmäßig verteilt, bildet bald einen dunklen Halbmond, bald eine dunkle, dem Lumen zugewendete Kappe, endlich sieht man auch ganz unregelmäßige Bilder. Sie zeigen uns offenbar eine unvollendete Spermiogenese mit degenerativen Veränderungen der Kernsubstanz.

Bei zunehmender Schwere der Degeneration finden sich auch die Spermatozyten und Spermatogonien zerstört und in homogene runde, sich rötlich färbende Schollen umgewandelt. So können sich schließlich Kanälchen finden, die nichts weiter als eine basale Lage erhaltener Sertolischer Zellen aufweisen. Diese selbst zeigen sich stets unversehrt und bilden selbst bei schwerster Degeneration eine kontinuierliche einschichtige Lage auf der gleichfalls überall zart bleibenden Basalmembran. Die Zerstörung der inneren Zellagen ergreift nicht überall gleichmäßig in ganzem Umfange die Zellen, sondern kann sich auch mehr herdförmig entwickeln und gegen die Außenhaut hin ausbreiten.

Was die mehr oder weniger zahlreichen und verschieden großen Riesenzellen anbelangt, so sind sie meist rund oder etwas oval, zeigen aber auch teilweise eine unregelmäßige Protoplasmaabgrenzung und selbst syncytialen Charakter. Die wechselnd zahlreichen Kerne liegen bald unregelmäßig im Zelleib zerstreut, bald nehmen sie als dichter Haufen das Zentrum ein, bald und selten bedingen sie auch in peripherischer Anordnung den *Langhanstypus* der Riesenzellen. Die Gestalt der Kerne ist rund, ein Chromatingerüst und Kernkörperchen zum Teil gut zu erkennen, während andere Kerne eine Pyknose verschieden schweren Grades und manchmal eine unregelmäßige Verteilung des Chromatins erkennen lassen.

Die Riesenzellen entstehen offenbar sowohl aus den Spermatiden wie aus den Spermatozyten, vielleicht teilweise auch aus Spermatogonien. Es ist aber schwer, ihre Ursprungszellen genau zu bestimmen. Nur bei noch nicht allzu weit vorgeschrittener Degeneration gelingt dies sicher aus der Lage und Größe der Riesenzellen. Bei weit vorgeschrittener Degeneration können sich im Kanälchenlumen nur noch Riesenzellen über den erhaltenen Sertolizellen finden. Auch die Riesenzellen verfallen dem Untergange, so daß man also an ihnen vielfach die Merkmale der Degeneration sehen kann. Sie spielt sich so ab, daß die Grenzen des Protoplasmas unscharf werden, wie ausgefranst erscheinen, während die Kerne allmählich verblassen und unsichtbar werden. Mit dem toten Protoplasma bilden sie dann eine homogene schollige Masse. Wie bereits erwähnt, ist an letzterem als erstes Kennzeichen der Entartung eine vacuoläre Beschaffenheit fest-

zustellen, die bald gleichmäßig den ganzen Zelleib betrifft, bald nur im Zentrum oder der Peripherie ausgesprochen ist.

Was schließlich noch das Verhalten der Zwischenzellen anbelangt, so findet sich keine Vermehrung. In ihrem Protoplasma sind teilweise reichlich Lipoidsubstanzen nachweisbar, die den Zellen in den Paraffinschnitten oft ein wabiges Aussehen geben.

Bei einer anderen Maus, die mehrere Wochen bei abnorm hoher Temperatur gehalten worden war, fehlt in den Kanälchen des Neben-

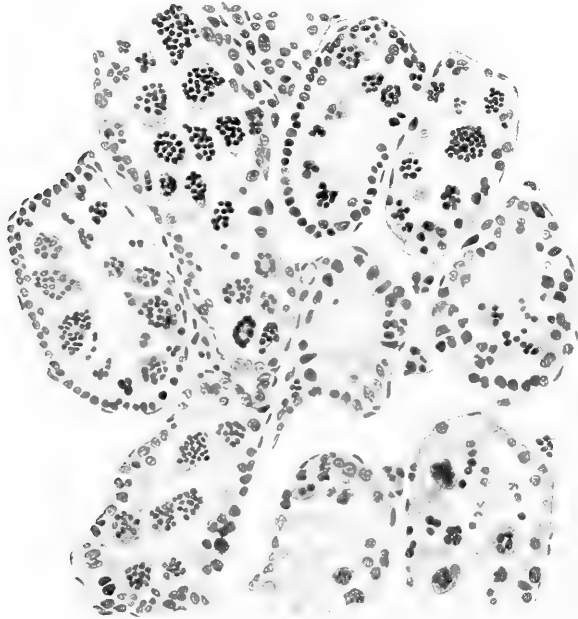


Abb. 5. Hochgradige Degeneration der samenbildenden Epithelien, völlige Aufhebung der Spermio-genese im Hoden der grauen Hausmaus bei langer Wirkung hoher Wärme.

hodens jede Spur von Spermien und man findet nur einen rötlichen feinkörnigen Detritus, in dem höchstens einige Schatten ein- und mehrkerniger Zellen erkennbar sind. Im Hoden (Abb. 5) ist gleichmäßig die Spermio-genese völlig erloschen. Überall begegnet uns das Bild schwerster Degeneration. Die Mehrzahl der Kanälchen zeigt nur noch einen einschichtigen Belag von im übrigen gut erhaltenen, nirgends Wucherungserscheinungen aufweisenden Sertolizellen auf der immer zart bleibenden Basalmembran. Diese weist an solchen verödeten Kanälchen deutliche feine Fältelungen auf, nirgends sind aber die Kanälchen kollabiert. Über den Sertolizellen füllt das Lumen eine fädig-körnige Masse wechselnder Menge, die oft das Zentrum frei läßt



und zäh der Wand, anzuhafte scheint. In dieser Masse liegen zahlreiche Riesenzellen der beschriebenen Art, oft mit degeneriertem Protoplasma und pyknotischen, auch verschieden großen Kernen. Soweit noch einkernige Elemente, also wohl hauptsächlich Spermatozyten und Spermatogonien, erhalten geblieben sind, zeigen sie zu meist vacuoläre Entartung ihres Protoplasmas, die im übrigen am deutlichsten an den Riesenzellen sichtbar ist. Auch in diesem Hoden sind alle Übergänge von besser erhaltenen Kanälchen zu völlig verödeten festzustellen. An den erhaltenen Zellen begegnet man sogar Kernteilungsfiguren, die freilich meist Verklumpungen erkennen lassen. Bemerkenswert ist, daß auch in den Riesenzellen sich Teilungserscheinungen manchmal an allen Kernen zugleich wahrnehmen lassen. Auch ist hervorzuheben, daß sich vielfach Unregelmäßigkeiten der Teilungsfiguren und vor allem Absprengungen von Chromosomen zeigen. Während der Kernteilung kann man die Zelle in Auflösung sehen, so daß die Chromosomen noch gut erkennbar in die fädig-körnige Detritusmasse geraten, in der man sie vielfach in Gruppen und einzeln liegen sieht. Ja, je nach der vom Zelluntergang überraschten Phase der Kernteilung kann man Monastern und Diastern entsprechende Chromosomengruppen im Detritus erkennen. Nirgends führt die Kernteilung zur Bildung von Spermien oder ihnen ähnlicher Elemente. Doch ist sicher die gestörte Kernteilung vielfach zum Ablauf gekommen. Wo sich normale Kerne gebildet haben, kann man das freilich nicht ohne weiteres feststellen, aber es haben sich z. B. Riesenzellen auffinden lassen, in denen neben Kernen kleine Chromatinklümpchen, anscheinend sogar einzelne Chromosomen zu sehen waren, woraus man wohl mit Recht auf eine abgelaufene fehlerhafte Kernteilung und zweitens auch auf die Entstehung der Riesenzellen nicht durch Konfluenz, sondern durch Ausbleiben der Protoplasmateilung schließen darf. Auch in solchen ganz schwer veränderten Hoden hat sich keine nennenswerte Vermehrung der Zwischenzellen, sondern nur eine Anreicherung mit lipoiden Substanzen nachweisen lassen, die ich auf die Resorption untergehenden Zellmaterials beziehe.

Von den normalen Hodenbildern der Kontrolltiere zu den beschriebenen Bildern schwerer Degeneration der samenbildenden Zellen haben sich je nach der Höhe der abnormen Temperatur und der Dauer ihrer Einwirkung alle stufenweisen Übergänge gefunden. Es hat sich genau verfolgen lassen, daß immer zuerst die letzte Ausbildung der Samenfäden gehemmt bzw. aufgehoben wird und daß die Schädigung der samenbildenden Zellen von den inneren Schichten, also den gereiften Elementen, zu den äußeren fortschreitet. Obwohl ich selbst nähere Untersuchungen darüber nicht angestellt habe, dürfte es nicht schwer sein, die Grenze der optimalen Temperatur zu bestimmen, über die

hinaus es zu einer Hemmung der Spermiogenese kommt. Hierüber wird später berichtet werden.

Im Gegensatz zu diesen Befunden an den Hoden der Wärmemäuse hat sich in allen Fällen bei den Kältemäusen eine gut erhaltene, ja vielleicht sogar zuweilen gesteigerte Spermiogenese gefunden (Abb. 6).

Fassen wir das Ergebnis unserer Untersuchungen kurz zusammen, so haben wir es also mit einer mit der Dauer der abnormen Hitze Wirkung zunehmenden, anfangs ungleichmäßigen Entartung des spezifischen Hodenparenchyms zu tun, die schließlich einer nahezu völligen Zerstörung der samenbildenden Zellen gleichkommt. Doch bleiben wohl immer einige Spermato gonien erhalten, von denen eine Neubildung der Samenzellen ausgehen kann. Denn ausgedehnte Versuche haben gezeigt, daß bei der Verbringung der Hitzemäuse in eine normale Außentemperatur die samenbildenden Zellen sich regelmäßig regenerieren und damit auch wieder normale Bilder der Spermiogenese auftreten. Es ist also die Schädigung des Hodenparenchyms ausgleichbar, was auch die Feststellung an Hitze-Kältemäusen lehrt.

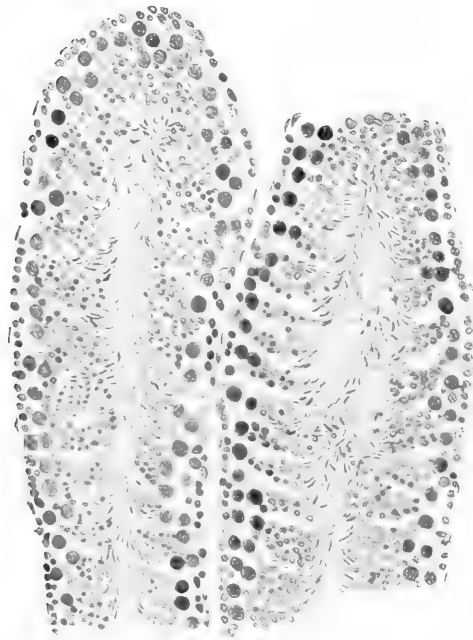


Abb. 6. Lebhaftes Spermiogenese im Hoden der grauen Hausmaus bei länger dauernder Kälte Wirkung.

Die beschriebenen Bilder der Degeneration der samenbildenden Zellen sind uns wohl bekannt. Wir begegnen ihnen nicht nur bei der soeben eingehend von *Goette*<sup>1)</sup> behandelten Atrophie der menschlichen Hoden im Verlaufe der verschiedensten, besonders chronischen und abzehrenden Krankheiten, sondern auch bei den von *Herzheimer*<sup>2)</sup>, *Hoffmann*<sup>3)</sup>,

<sup>1)</sup> *Goette*, Beitrag zur Atrophie des menschlichen Hodens. Veröffentl. a. d. Kriegs- u. Konst.-Pathol. 1921, Heft 9. Fischer, Jena.

<sup>2)</sup> *Herzheimer* und *Hoffmann*, Über die anatomischen Wirkungen der Röntgenstrahlen auf den Hoden. Dtsch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 36.

<sup>3)</sup> *Hoffmann*, Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf den Kaninchenhoden. Inaug.-Diss. Bonn 1908.

*Simmonds*<sup>1)</sup>, *Kyrle*<sup>2)</sup> u. a. geschilderten Hodenschädigungen durch Röntgenstrahlen und Mesothorium, ferner durch Gifte, wie den Alkohol [*Weichselbaum* und *Kyrle*<sup>3)</sup>] und das Jod [*Adler*<sup>4)</sup>]. Die Degeneration verläuft in allen Fällen wahrscheinlich in gleicher Weise und wird im wesentlichen nur graduelle Unterschiede aufweisen. Wenn ich aus dem Vergleich der beschriebenen Bilder mit solchen, die von mir mit Röntgenbestrahlung oder durch Jod geschädigte Mäusehoden zeigen, etwas hervorheben soll, so ist es die Feststellung, daß die Spermien sich nicht so gut erhalten zeigen wie bei der Röntgenbestrahlung der Hoden und dann das besonders reichliche Auftreten der Riesenzellen. Die letzteren beherrschen bei den Hitzemäusen in einem gewissen Stadium völlig das Bild. Es ist nicht allzu schwer, sich die Verschiedenheit des Degenerationsbildes aus der Art, Schnelligkeit und Dauer der Hodenschädigung zu erklären, worauf hier näher nicht weiter eingegangen werden soll. Es mag die allgemeine Feststellung genügen, daß auch unsere Versuche *Goettes* Ausspruch berechtigt erscheinen lassen, es sei die Spermiogenese ein besonders empfindlicher „Indikator“ für abnorme Vorgänge im Organismus. Man darf aber keineswegs nur an krankhafte Einflüsse auf das Hodenparenchym denken. Mit aller Bestimmtheit ist es auszusprechen, daß die oben beschriebenen Veränderungen *nichts anderes sind als der Ausdruck einer Ansprechbarkeit, die unter physiologischen Verhältnissen bereits eine Rolle spielt und von uns als Teilerscheinung einer jeweiligen Einstellung des endokrinen Systems aufgefaßt wird.*

Zur Begründung dieser Annahme läßt sich folgendes anführen. Wenn man die schwere, bis zu nahezu völliger Zerstörung der spezifischen Keimdrüsenzellen gehende Schädigung der Spermiogenese bei Einwirkung abnorm hoher Außentemperatur auf den Organismus erklären will, kommen drei Möglichkeiten in Betracht. Erstens wäre es denkbar, daß die abnorme Wärme gleichzeitig mit der Schilddrüse und unmittelbar das Hodenparenchym zur Atrophie bringt. Zweitens könnte diese der Ausdruck der Hemmung und des Darniederliegens der Stoffwechselforgänge infolge Schädigung der Schilddrüsenfunktion, also einer mittelbaren Wirkung der Schilddrüsen-schädigung, sein. Drittens endlich wäre in Erwägung zu ziehen, ob nicht die Atrophie

<sup>1)</sup> *Simmonds*, Über die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf den Hoden. Fortschr. a. d. Geb. d. Röntgenstr. **14**, 229. 1909. — Über Mesothoriumschädigungen des Hodens. Dtsch. med. Wochenschr. 1913, Nr. 47.

<sup>2)</sup> *Kyrle*, Über experimentelle Hodenatrophie. 14. Verhandl. d. Dtsch. path. Gesellsch. Erlangen 1910.

<sup>3)</sup> *Weichselbaum* und *Kyrle*, Sitzungsber. d. kais. Akademie d. Wissensch. Wien, math.-naturw. Klasse **121**. 1912.

<sup>4)</sup> *Adler*, Über Jodschädigungen der Hoden. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **75**, 362. 1914.

der Schilddrüse einen unmittelbaren Einfluß auf die samenbildenden Zellen ausübt auf Grund physiologischer Beziehungen der Schilddrüsenfunktion zur Spermiogenese. Eine sichere Entscheidung zwischen diesen Möglichkeiten, die mir nach reiflicher Überlegung allein der Erörterung wert erscheinen, ist schwer zu treffen. Weitere Untersuchungen sind notwendig. Am unwahrscheinlichsten dünkt mir ein unmittelbarer Einfluß der abnormen Temperatur auf die Keimzellen, wie er etwa im Hinblick auf die Versuche *Towers* an *Leptinotarsa* angenommen werden könnte. Andererseits spricht namentlich die Schwere der Hodenveränderung gegen die Annahme, daß sie Ausdruck der allgemeinen Schädigung des Organismus durch die Wärme oder der Herabsetzung der Lebensvorgänge im Organismus infolge der Schilddrüsenatrophie sei. Während des Winterschlafes liegt natürlich auch die Spermiogenese darnieder, aber man wird vergeblich nach Bildern wie den beschriebenen suchen und vielmehr nur solche einer Atrophie finden, wie sie beispielsweise *Goette* (a. a. O.) als solche leichten Grades beschreibt. Und doch geht in meinen Versuchen die Atrophie der Schilddrüse teilweise ebensoweit wie bei den Fledermäusen unter natürlichen Verhältnissen. Eine Schädigung der Mäuse durch die Hitze unmittelbar ist mir um so weniger aufgefallen, als die Tiere ihre Freßlust bewahrten und sich bei den lange im Versuch gestandenen sogar recht reichliches Fettgewebe vorfand. Ist das nun etwa wieder eine Wirkung der Hodenatrophie? Die Erörterung derartiger Fragen führt zu leicht ins Uferlose, so lange nicht ein eindeutiges Versuchsergebnis vorliegt. Immerhin will ich bekennen, daß ich geneigt bin, unmittelbare Beziehungen zwischen der Funktion der Schilddrüse und der Spermiogenese anzunehmen, wofür manches spricht und ich zur Zeit noch stichhaltige Beweise suche. So sind z. B. augenblicklich noch Versuche im Gange, den Einfluß abnorm hoher Temperaturen auf die Schilddrüse durch Gaben wirksamer Schilddrüsensubstanz auszugleichen und dabei das Verhalten der samenbildenden Zellen zu prüfen, worüber später berichtet werden soll.

Besonders bemerkenswert mußten mir die regressiven Veränderungen in den Hoden bei gleichzeitiger Atrophie der Schilddrüse erscheinen im Hinblick auf den schon vor Jahren in meinem Institut von *Adler* (a. a. O.) geführten Nachweis, daß unter den hodenschädigenden Giften namentlich auch das Jod eine wichtige Rolle spielt. Mit Peptonum jodatam, Natrium jodoalbuminatum, Jodvasogen und Lugolscher Lösung subcutan vorbehandelte Kaninchen erwiesen sich steril und in den Hoden fanden sich leichtere und schwerere, bis zu völliger Zerstörung der samenbildenden Zellen gehende Degenerationen des spezifischen Parenchyms, die im wesentlichen dem Bilde der Röntgenschädigung der Hoden entsprachen und auch, wie ich

mich aufs neue überzeugt habe, keine grundsätzliche Abweichung von den oben beschriebenen Bildern erkennen lassen. *Adler* kam damals zu der Ansicht, daß es sich ausschließlich um eine Wirkung des molekularen Jodes handle, was besonders daraus hervorzugehen scheint, daß die Wirkung der Jodpräparate ganz von der lockeren oder festeren Bindung des Jodes in den benutzten Präparaten abhängt.

Auf Grund dieser Feststellung wäre zunächst der Frage nachzugehen, ob etwa der Jodgehalt des spezifischen Schilddrüsenhormones bei übermäßiger Bildung schädigend auf die Spermiogenese wirkt. Man wird also vor allem den menschlichen Morbus Basedowi ins Auge fassen, bei dem man eine Hyperfunktion der Schilddrüse als gegeben annimmt, während freilich neuerdings von den meisten Forschern auch eine Dysfunktion vermutet und vielfach sogar für am wesentlichsten gehalten wird. Die vorliegenden Angaben sind spärlich und wenig brauchbar. Zwar läßt sich bei weiblichen Basedowkranken oftmals eine Hypoplasie und ein durchaus mangelhaftes Funktionieren der Keimdrüsen feststellen, aber bezüglich der Hoden lauten die wenigen Angaben recht widersprechend. In der Monographie *Chvosteks*<sup>1)</sup> finden wir nur die Angabe, daß *Waltzberg* und *Kocher* bei jugendlichen Basedowkranken je einmal auffallend kleine Hoden sahen und daß *Pick* wie *Bonamour* eine Abschwächung bzw. das Erlöschensein der Geschlechtsfunktion in schweren Fällen betont haben, während *Chrystalow* nur ganz allgemein bemerkt, die Hodenveränderungen pflegten weniger schwer als die der Ovarien zu sein. Demgegenüber besteht aber nach anderen Autoren umgekehrt sogar eine Steigerung der Geschlechtsfunktion<sup>2)</sup>. Kein Wunder also, wenn *Chvostek* nichts von spezifischen Basedowveränderungen der Keimdrüsen wissen will und vielmehr, wie es wohl der allgemeinen Auffassung auch entspricht, die Anomalien der Keimdrüsen als die Teilerscheinung einer primären minderwertigen hypoplastischen Konstitution ansieht, auf deren Boden erst die Schilddrüsenstörung sich entwickelt bzw. zur Geltung kommt. Diese Ansicht habe auch ich<sup>3)</sup> in meinen Arbeiten über den Morbus Basedowi von jeher vertreten. Offenbar ist aber die Wirkung

1) *Chvostek*, Morbus Basedowi und die Hyperthyreosen. Enzyklopädie der klinischen Medizin. Springer, Berlin 1917.

2) Eine eingehende experimentelle Prüfung der Frage ist sehr wünschenswert. Nach *Monterosso* (*Arch. de Biol.* **28**. 1913) führt die Verabreichung von Schilddrüsensubstanz zu einer Degeneration der samenbildenden Zellen. Auch ist die Angabe *Bleibtreus* (Über den Einfluß der Schilddrüse auf die Entwicklung des Embryos. *Dtsch. med. Wochenschr.* 1907, Nr. 1, S. 15) beachtenswert, daß bei auffallend viel mit Schilddrüse gefütterten Kaninchen Sterilität nachweisbar war.

3) *Hart*, Die Bedeutung des Thymus für Entstehung und Verlauf des Morbus Basedowi. *Dtsch. Arch. f. klin. Chirurg.* **104**. 1914.

eines im Übermaß gebildeten jodhaltigen Hormons anders zu beurteilen als die freien molekularen Jodes, wie sie eben beim Morbus Basedowi nicht vorliegt.

Für die Erklärung der Hodenveränderungen unter der Wirkung abnorm hoher Temperaturen kommt aber ohnehin die Überfunktion der Schilddrüse nicht in Frage. Es wurde ja im Gegenteil eine bis zu völligem Schwunde des Kolloides gehende Atrophie des Organs festgestellt. Ist vielleicht damit eine mangelhafte Entgiftung des Organismus irgendwelcher Art verbunden, die zur Schädigung der samenbildenden Zellen führen könnte? Verschiedene Annahmen ähnlicher Art sind möglich. Jedoch halte ich es nicht für angebracht, über sie alle in nähere Betrachtung einzutreten, die nach meiner Ansicht nicht über Mutmaßungen hinausgehen könnte. Ich will mich deshalb mit der ausdrücklichen Feststellung hier begnügen, daß bereits Beobachtungen über nähere Beziehungen zwischen der Schilddrüse und den Keimdrüsen freilich noch ganz unklarer Natur vorliegen, auf die hier kurz verwiesen sei. Auch hier kann ich wieder auf Untersuchungen *Adlers* verweisen. Er fand einmal<sup>1)</sup> bei der Lokalrasse von Grasfröschen im Ursprungtal der bayrischen Alpen, bei der *Witschi*<sup>2)</sup>, wie im früheren Aufsätze erwähnt, ein beträchtliches Überwiegen der ausgewachsenen Männchen nachgewiesen hat, in jugendlichem Alter eine stark veränderte Schilddrüse, die histologisch dem Bau der menschlichen Basedowschilddrüse glich, andererseits sah er die gleiche Schilddrüsenveränderung bei Larven und Fröschen, die aus überreifen Eiern gezogen worden waren und fast ausnahmslos männlich differenzierte Keimdrüsen besaßen. Aus dem vollkommenen Parallelismus und der Ausbildung der Schilddrüsen in diesen Versuchen schloß *Adler*: „Die stark funktionierende Schilddrüse wirkt männchenbestimmend.“ Die gleiche Feststellung der Wirkung überreifer Eier, ohne Angaben über die Schilddrüse, hat *Hertwig* gemacht. Nach *Adlers* Beobachtungen scheint, ohne daß zunächst eine Erklärung der Erscheinung möglich ist oder versucht werden soll, festzustehen, daß *die Funktion der Schilddrüse einen Einfluß auf die Keimzellen besitzt*.

Wie ich bemerkt habe, möchte ich in den bei gleichzeitiger Atrophie der Schilddrüse gefundenen Veränderungen der Hoden einen allerdings ins Pathologische gesteigerten Ausdruck einer Umstellung im ganzen durch abnorme Hitzegrade beeinflussten endokrinen System

<sup>1)</sup> *Adler*, Experimentelle Untersuchungen über die sexuelle Differenzierung bei *Rana temporaria*. I. Der Wirkungsmechanismus überreifer Eier. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **183**, 23. 1920.

<sup>2)</sup> *Witschi*, Studien über die Geschlechtsbestimmung bei Fröschen. Arch. f. mikroskop. Anat. **86**. 1914.

erblicken. Und zwar betrachte ich die Korrelation zwischen Schilddrüse und Hodenzellen als eine rein chemische. Alle nur möglichen Grade und Schwankungen dieser Korrelation sind denkbar und kommen sicher vor. Was die beschriebenen Versuche zeigen, geht natürlich weit über die physiologische Grenze der immerfort im endokrinen System stattfindenden Einstellungen hinaus. Bei nicht plötzlich und stark gesteigerter Temperaturwirkung machen die Versuchstiere einen munteren Eindruck, die Schilddrüse und Hoden sind mikroskopisch zwar geschädigt, aber erstere enthält noch Kolloid, in letzteren ist noch Spermiogenese festzustellen, was natürlichen Verhältnissen eher entsprechen dürfte. Sollten solche Tiere nicht noch begattungs- und zeugungsfähig sein?<sup>1)</sup> Sind dann aber gegebenenfalls auch die befruchtenden Spermien als unbedingt unveränderte anzusehen? Könnte nicht diese oder jene Samenzelle eine so geringfügige Abänderung erfahren haben, daß sie befruchtungsfähig bleibt, dennoch aber ihre Abänderung in den Eigenschaften der Nachkommen zur Geltung kommt?

Darin sehe ich die große Bedeutung der beschriebenen Beobachtungen, daß aus ihnen nicht nur eine Beeinflussung der Schilddrüsen-

<sup>1)</sup> Über Untersuchungen in dieser Hinsicht werde ich später ausführlich berichten. Ich werde mich dabei namentlich auf die Abhandlung von *Steinach* und *Kammerer* über Klima und Mannbarkeit (Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen 46. 1920) und ihre Kritik durch *Stieve* (Entwicklung, Bau und Bedeutung der Keimdrüsenzweischzellen. Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. 23. 1921) beziehen. *Steinach* und *Kammerer* haben nämlich, worauf ich erst nach Abschluß dieser Arbeit aufmerksam geworden bin, gleichfalls Versuche über die Wirkung abnorm hoher Außentemperatur auf Warmblüter, und zwar auf Wanderratten, angestellt, wobei sie ein leichteres Gewicht der Hoden, eine Vermehrung der Zwischenzellen, eine erhöhte Fruchtbarkeit bei Steigerung des Geschlechtstriebes festgestellt zu haben glauben. *Stieve* aber — und das ist für meine Betrachtungen besonders wichtig und hat mich zum Beginn zahlreicher neuer Versuche veranlaßt — kommt in seiner Kritik der Mitteilung von *Steinach* und *Kammerer* zu einem gerade entgegengesetzten Ergebnis. Er stellt auf Grund ihrer zahlenmäßigen Angaben und Abbildungen fest: schon bei einer Wirkung von 25° ist die Zahl der sterilen Weibchen erheblich größer als bei niederen Temperaturen, denn sie beträgt mehr als 50%. Somit ist trotz der Steigerung des Geschlechtstriebes, trotz der erzielten Frühreife eine schwere Schädigung der Keimdrüse die Folge abnorm hoher Temperaturwirkungen, was in einer starken Verminderung der Fruchtbarkeit zum Ausdrucke kommt. Bezüglich des histologischen Verhaltens der Keimdrüsen stellt *Stieve* fest, daß im Kanälchenlumen der Hitzehoden nur ganz spärliche oder keine Spermien vorhanden sind, während die Kontrollhoden vollgepfropft von ihnen sind. Auch hieraus ergibt sich also eine Erklärung für die Tatsache, daß nur ein Drittel der Versuchstiere fortpflanzungsfähig war. Was die Zwischenzellen anbelangt, so mögen sie hier aus dem Spiele bleiben. Mit *Stieve* halte auch ich die ihnen von *Steinach* und *Kammerer* zugesprochene Bedeutung für unrichtig. Bei der Verwandtschaft unserer Versuche ist aber wohl die Feststellung nicht unwesentlich, daß ich im Gegensatz zu jenen Forschern keine Vermehrung der Zwischenzellen in den degenerierten Hoden der Hitzemäuse gefunden habe, höchstens ein deutlicheres Hervortreten.

funktion durch äußere Lebensbedingungen hervorgeht, die dadurch nachhaltig auf die Lebensvorgänge im Organismus wirken, sondern daß auch, wahrscheinlich infolge sekundärer Wirkungen im endokrinen System, ein tiefgreifender Einfluß auf die Keimzellen sehr wahrscheinlich gemacht worden ist, der möglicherweise zu einer Veränderung der Erbfaktoren, zu einem Erwerb neuer Eigenschaft, zu einer Idiomutation führt. Was wir beschrieben haben, sind schwere Veränderungen der samenbildenden Zellen, denen natürlich eine solche biologische Bedeutung nicht zukommt. Sie sind ausgesprochen pathologisch, aber als solche doch nur als das Extrem physiologischer Vorgänge anzusprechen. Die groben Versuchsbedingungen mit ihren nicht minder groben Wirkungen kommen natürlich nicht im mindesten den Wirkungen in der Natur gleich. Sie lassen aber deren Wesen erkennen, wir erfahren, auf welche Weise die natürlichen Lebensbedingungen wohl feine Veränderungen der Erbsubstanz hervorbringen können, die sich zwar der Wahrnehmung entziehen, aber doch eine ungeheure biologische Bedeutung besitzen.

Wir haben Störungen der Kernteilung wie z. B. auch Absprengung von Chromosomen in den geschädigten samenbildenden Zellen gefunden. Aus ihnen könnte eine Änderung des Chromosomenbestandes lebensfähig bleibender Elemente hervorgehen, was im Hinblick auf die Tatsache belangreich ist, daß man immer mehr als wahrscheinliche Grundlage der Mutation eine Änderung des Chromosomenbestandes erkannt hat. Ich verweise auf das letzte Werk *Morgans* (a. a. O.) und auf einen kleinen Aufsatz *Levys*<sup>1)</sup>, in dem die Veränderungen des Chromosomenbestandes und ihre Bedeutung kurz besprochen werden.

Nachdem schon früher festgestellt worden ist, daß Mutationen der durch die Untersuchungen *de Vries'* berühmt gewordenen Nachtkerze (*Oenothera*) ein gegenüber der Ausgangform abweichender Chromosomenbestand der Zellen zugrunde liegt, und es *Winkler*<sup>2)</sup> gelungen ist, durch bestimmte Maßnahmen bei Tomaten und anderen Nachtschattengewächsen Adventivsprosse und aus ihnen ganze blühende Pflanzen mit einem abgeänderten Chromosomenbestand zu erzeugen, hat in neuester Zeit *Levy*<sup>3)</sup> sehr bemerkenswerte Angaben über künstliche Änderungen der Chromosomenzahl und über die bekanntlich von *Boveri*<sup>4)</sup> besonders hoch bewerteten „poikiloploiden“ Zellen gemacht,

<sup>1)</sup> *Levy*, Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren und anderer Gewebsmißbildungen. Berl. klin. Wochenschr. 1921, Nr. 34, S. 989.

<sup>2)</sup> *Winkler*, Zeitschr. f. Botan. 8. 1916.

<sup>3)</sup> *Levy*, Die Kernverhältnisse bei pathogenetischen Fröschen. Ein Beitrag zur Physiologie und Pathologie der Zelle. Sitzungsber. d. Preuß. Akad. d. Wissensch. 24. 1920.

<sup>4)</sup> *Boveri*, Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren. Fischer, Jena 1914.



wobei besonders auch auf die direkte Beobachtung<sup>1)</sup> von atypischen Kernteilungen im Froschhoden hinzuweisen ist, aus denen teils poliklopoide Kerne bzw. Zellen, teils bei Ausbleiben der Protoplasmatteilung vielwertige Riesenzellen hervorgingen. Auf diese Weise durch atypische Kernteilung entstandene verschiedenwertige Spermatozoen sind von *Levy*<sup>2)</sup> beschrieben worden.

Längst bekannt sind schon aus den Versuchen der Gebrüder *Hertwig*<sup>3)</sup> die Veränderungen der Kernteilung auch unter chemischen Einwirkungen, wie sie wohl auch in der freien Natur vorkommen. Wenigstens bin ich der Überzeugung, daß die von *Ewald*<sup>4)</sup> im Kiemenblättchen aus einem Tümpel gefangener Salamanderlarven gefundenen atypischen Mitosen, die *Ewald* selbst auf eine Überstürzung der Kernteilung durch äußere Einflüsse zurückführt, nicht mechanisch, sondern thermisch-chemisch bedingt sind.

Wie aber die befruchtete Eizelle und Zellen der Oberhaut unter chemischen Einwirkungen eine atypische Kernteilung oder überhaupt eine Störung der Karyokinese erleiden können, so ist das auch für die reife Samenzelle im Hoden des warmblütigen Wirbeltieres denkbar unter der Wirkung eines endokrinen chemischen Stoffes, wie er beispielsweise von der Schilddrüse an das Blut abgegeben wird. Dieser muß nur unmittelbar auf die Samenzellen wirken, wie es unserer Vorstellung entspricht, und nicht etwa durch Vermittlung des Nervensystemes, die uns in diesem Falle ganz unverständlich erscheinen würde. Die Möglichkeit einer Beeinflussung der Keimzellen durch innere Sekrete in der angedeuteten Weise halte ich für kaum mehr anzweifelbar. Doch hat *Grote*<sup>5)</sup> wohl schwerlich durch die Thymusfütterung der Elterntiere eine Keimesänderung erzeugt, wie er kurz beschrieben hat, da seine Versuche einer ganz anderen Deutung fähig sind.

Wenn wir annehmen, daß gewisse äußere Wirkungen zunächst endokrine Organe wie die Schilddrüse in ihrer Funktion beeinflussen und daß eine solche Funktionsänderung innerhalb des endokrinen

1) *Levy*, Über die sogenannten Ureier im Froschhoden. Biol. Zentralbl. **40**, 1. 1920.

2) *Levy*, Sitzungsber. d. Gesellsch. naturforsch. Freunde zu Berlin 1921, Nr. 8/10, S. 210.

3) *O. Hertwig*, Über pathologische Veränderungen des Kernteilungsprozesses infolge experimenteller Eingriffe. Internat. Beitr. z. wissensch. Med. 1891. — *O.* und *R. Hertwig*, Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluß äußerer Agentien. Jena 1887.

4) *Ewald*, Über atypische Mitosen im Kiemenblättchen der Salamanderlarve. Frankf. Zeitschr. f. Pathol. **23**, 1. 1920.

5) *Grote*, Versuche über Keimesänderung durch Inkreteinfluß. Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 48.

Systems auf dem Wege einer chemischen korrelativen Um- und Neueinstellung auch auf die Keimzellen wirkt, so haben wir ein wesentlich besseres Verständnis für die Annahme gewonnen, daß äußere Lebensbedingungen abändernd auf die Erbsubstanz der sich damit jenen einpassenden Individuen wirken und die Entstehung neuer vererbbarer Eigenschaften bedingen. So allein wohl ist, wie ich schon wiederholt ausgeführt habe<sup>1)</sup>, die Vererbung erworbener Eigenschaften zu erklären und es ist mir eine besondere Genugtuung, daß ein so angesehenen Forscher wie *R. Fick*<sup>2)</sup> sich beistimmend zu meinen Ausführungen geäußert hat. In praktischer Hinsicht mag es zutreffen, wenn *Mathes*<sup>3)</sup> noch unlängst betont, der Körper beherberge die Keimzellen wie einen selbständigen Organismus, der den Einflüssen der Außenwelt und damit auch der Somazellen entrückt sei, was die Erhaltung ihrer ihnen eigentümlichen Entwicklungsrichtung anbelangt, aber biologisch ist der Satz nicht haltbar. Ich möchte ihn sogar in praktischer Hinsicht anfechten auf Grund gewisser Vorstellungen über die Bildung „pathologischer Rassen“. In einem wichtigen Punkte erfahren meine Vorstellungen neuerdings eine wesentliche Unterstützung. Man kann sich nämlich eine Beeinflussung der Keimzellen durch Faktoren der Umwelt auf dem Wege über das endokrine System um so leichter vorstellen, je mehr man sich zu der besonders von *Stieve* (a. a. O.) vertretenen, aber auch von den meisten pathologischen Anatomen<sup>4)</sup> geteilten Auffassung bekennt, es sei die innere Sekretion der Keimdrüsen nicht an die Zwischenzellen, sondern an die Keimzellen selbst gebunden. Die beschriebenen Beobachtungen stützen entsprechend meinen Vorstellungen diese Ansicht. Weitere Folgerungen sollen Gegenstand einer späteren Abhandlung sein.

1) *Hart*, Über die Vererbung erworbener Eigenschaften. Berl. klin. Wochenschr. 1920, Nr. 28, S. 654.

2) *Fick*, Bemerkungen zur „Vererbung erworbener Eigenschaften“. Anat. Anz. 53, 475. 1920.

3) *Mathes*, Über Konstitution und Vererbung erworbener Eigenschaften. Münch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 4, S. 109.

4) Siehe 18. Verhandl. d. Dtsch. path. Gesellsch. Jena 1921.

# Untersuchungen über die Ionentheorie der Reizung.

## IV. Mitteilung.

### Die Theorie der Erscheinungen des Flimmerns beim Dunkelsehen.

Von

Dr. P. Lasareff,

Mitglied der Akademie der Wissenschaften zu Petrograd, Professor der Universität und Technischen Hochschule zu Moskau.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 8. Mai 1922.)

In meinen Arbeiten habe ich gezeigt, daß man von überaus einfachen Voraussetzungen ausgehend die Bedingungen folgern kann, unter welchen ein unterbrochenes Licht einen kontinuierlichen Eindruck hervorruft<sup>1)</sup>. Das Material zur Kontrolle dieser Theorie haben die sehr sorgfältigen und genauen Versuche von *Schaternikoff*<sup>2)</sup> geliefert. Aber alle Folgerungen der Theorie zu kontrollieren haben uns die Versuche von *Schaternikoff* nicht erlaubt, da dieselben bei einer konstanten Lichtstärke ausgeführt wurden. Vor allen Dingen war es interessant, den Einfluß der Lichtstärke auf die Unterbrechungszahl des Lichtes aufzudecken, wenn eine ununterbrochene Empfindung eintreten soll. Außerdem waren in der Theorie einige Annahmen enthalten, die ebenfalls eine experimentelle Begründung erforderten, und die Aufgabe dieser Arbeit besteht darin, diese Lücken auszufüllen und die allgemeine Theorie des peripherischen Sehens bei der intermittierenden Beleuchtung zu entwickeln.

#### *Die allgemeine Theorie.*

Die Versuche zeigen, daß, wenn in das Auge ein periodisch unterbrochenes Licht von solcher Stärke fällt, bei welcher nur ein Dunkelsehen eintritt, man immer eine solche Zahl von Unterbrechungen finden kann, bei welcher die durch das Licht im Auge hervorgerufene Empfindung kontinuierlich wird. Wie die Beobachtung zeigt, wächst die Zahl der Unterbrechungen, die erforderlich sind, um eine Verschmelzung der

<sup>1)</sup> P. Lasareff, Untersuchungen über die Ionentheorie der Reizung. **116**. Moskau 1916 (russisch.); P. Lasareff, Recherches sur la théorie ionique de l'excitation. **114**. Moscou 1918.

<sup>2)</sup> M. Schaternikoff, Zeitschr. f. Psychol. u. Physiol. d. Sinnesorgane **29**, **241**. 1902.

Empfindungen hervorzurufen, mit der Stärke des einfallenden Lichts. Daher erscheint die Annahme möglich, daß die Grenzzahl der Unterbrechungen von der Amplitude der Konzentrationsschwankungen der Zerfallprodukte (Ionen) abhängt, die durch das Licht hervorgerufen werden und die Erregung der Nerven bewirken. Wenn wir durch  $\Delta C'_1$  die Amplitude der Schwankungen der Konzentration bezeichnen, so können wir die Bedingungen für eine Verschmelzung der Empfindungen erhalten, wenn wir annehmen, daß  $N = \varphi(\Delta C'_1)$  ist, wobei  $\varphi(\Delta C'_1)$  eine vorläufig nicht näher bestimmbare Funktion von  $\Delta C'_1$  sein soll.

Indem wir die Funktion in eine Reihe entwickeln und nur die ersten Glieder derselben beibehalten, so erhalten wir

$$N = N_0 + M \Delta C'_1 \dots \quad (\text{I})$$

wenn  $N_0 = \varphi(0)$  und  $M = \varphi'(0)$  ist.

Durch Verkleinerung von  $\Delta C'_1$ , indem wir geringere Konzentrationsschwankungen der Ionen hervorrufen, können wir uns allmählich der Zahl der Unterbrechungen  $N_0$  nähern; diese Zahl ist die überhaupt geringstmögliche Zahl der Flimmerungen.

Um die Größe  $\Delta C'_1$  berechnen zu können, schreiben wir die Differentialgleichung der photochemischen Reaktion im Sehpurpur beim Dunkelsehen. Diese hat folgende Form<sup>1)</sup>:

$$\frac{dC'_1}{dt} = \alpha_1 k J C - \alpha_2 C'_1, \quad (\text{II})$$

wobei  $C'_1$  die Konzentration der reizenden Substanzen (Produkte der Reaktion)  $\alpha_1$  und  $\alpha_2$  die Reaktionskonstanten,  $k$  eine Absorptionskonstante,  $J$  die Lichtintensität und  $C$  Sehpurpurkonzentration ist. Wenn  $F$  eine periodische Funktion der Zeit ist, so können wir setzen, daß  $F = J(1 = \sin nt)$ , und wenn dabei  $C'_1$  klein ist und  $C$  als Konstante betrachtet werden kann, so wird das Integral der Gleichung (II) für den stationären Zustand durch die Formel gegeben:

$$C'_1 = \frac{\alpha_1}{\alpha_2} k J_0 C - \frac{\alpha_1 k J_0 C}{\sqrt{\alpha_2^2 + n^2}} \cdot \sin\left(nt - \frac{n}{\alpha_2}\right).$$

Ist  $n$  sehr groß, so unterscheidet sich die dabei erhaltene  $C'_1$  nicht merklich von der Konzentration  $C'_1 = \frac{\alpha_1}{\alpha_2} k J_0 C$ . Diese Tatsache stellt einen allgemeinen Ausdruck des *Talbot'schen* Gesetzes, welches wir näher in einer folgenden Mitteilung studieren werden, dar. Die Amplitude der Konzentrationsänderung ist  $\frac{\alpha_1 k J C}{\sqrt{\alpha_2^2 + n^2}}$ , und  $C$  ist durch die folgende Formel gegeben  $C = C_0(1 - e^{-\alpha_3 t})^2$ , wo  $t$  die Zeit der Dunkeladaptation nach der vollkommenen Helladaptation ist.

<sup>1)</sup> P. Lasareff, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **154**, 464. 1913.

<sup>2)</sup> P. Lasareff, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **155**, 310. 1914.

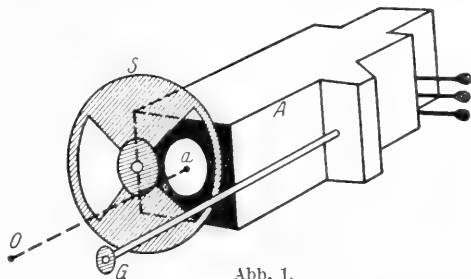
Indem wir  $2\pi N_0$  mit  $n_0$  bezeichnen, erhalten wir aus den Gleichungen [(I) und (II)] die gesuchten Bedingungen zur Verschmelzung der Eindrücke in der Form

$$(n - n_0) \sqrt{\alpha_2^2 + n^2} = 2\pi\alpha_1 k J C M = R J C, \quad (\text{III})$$

wobei  $R = 2\pi\alpha_1 k M$  ist.

#### Die Untersuchungsmethode der Erscheinungen des Flimmerns.

Für die Untersuchung der Erscheinungen des Flimmerns wurde folgende Anordnung angewandt. Der Adaptometer  $A$ , welcher uns gestattet, willkürlich die Stärke des das



Auge beleuchtenden Lichts (Abb.1) zu ändern, wurde hinter dem Sektor mit den Ausschnitten  $S$ , der das auf der Zeichnung bezeichnete Aussehen hat, aufgestellt, wobei die runde Öffnung des Adaptometers  $a$ , die durch ein weißes Milchglas geschlossen ist, als Lichtquelle für das Auge  $O$  des Beobachters, welcher sich in einer Entfernung von 50 cm von  $a$  befindet, dient.

Der Sektor  $S$  wurde mit einem Elektromotor in Bewegung gesetzt durch eine Reihe von Transmissionen, die gestatteten, dem Sektor eine beliebige Umdrehungsgeschwindigkeit zu geben, die genau durch einen Zähler gemessen wurde. Bei den Versuchen wurde eine konstante Umdrehungsgeschwindigkeit des Sektors hergestellt. Nach einer 5 Minuten anhaltenden Beleuchtung des Auges des Beobachters durch grelles Licht (durch weißes Papier diffus reflektiertes Licht), wurde dasselbe in Dunkelheit versetzt und nach Adaptation während einer bestimmten Zeit auf den Beobachtungsort  $O$  gebracht; es betrachtet dann die beleuchtete Fläche  $a$ , die ein intermittierendes Strahlenbündel aussendet; hierbei wurde die Stärke der Beleuchtung des Auges von dem Beobachter selbst mit Hilfe einer Stange  $G$  von Null reguliert, bis er eine Empfindung des Flimmerns empfand. In diesem Moment zählt der Assistent die Angaben des Adaptometers, die die relative Stärke  $J$  der das Auge beleuchtenden Strahlen geben und die Geschwindigkeit der Umdrehung des Sektors, somit die Zahl  $N$  der Unterbrechungen, bestimmen.

#### Vorversuche und die Bestimmung von $N_0$ .

Zur Bestimmung von  $N_0$  wurden Versuche mit einer gerade noch bemerkbaren Zahl von Flimmerungen angestellt bei verschiedenen Stärken des einfallenden Lichts  $J$ , darauf wurde eine Beziehung zwischen  $n$

und  $\frac{J}{\sqrt{\alpha_2^2 + n^2}}$  rechnerisch und graphisch dargestellt, worauf auf die Abszissenachse  $n$  abgetragen wurde und auf die Ordinatenachse  $\frac{J}{\sqrt{n^2 + \alpha_2^2}}$ .

Wie aus der Gleichung III ersichtlich, ist die Beziehung zwischen  $n$  und  $\frac{J}{\sqrt{\alpha_2^2 + n^2}}$  linear; der Wert von  $n_0$  entspricht der Abszisse  $n$  bei

$J = 0$ ; wenn wir daher auf die der Zeichnung gefundene Gerade bis zum Schnittpunkt derselben mit der Abszissenachse verlängern, so finden wir  $n_0$  und berechnen auch  $N_0$ .

Wie aus der Formel zu ersehen ist, hängt die Größe des Wertes von  $n_0$  nicht von der Zeitdauer der Adaptation ab, folglich also von der Konzentration  $C_0$ .

Wir führen weiter unten (Tab. I) ein Beispiel der Bestimmung des Wertes von  $n_0$  an, wobei derselbe gleich 35,8 gefunden wurde und die Gleichung  $n - n_0 = \frac{RJC}{\sqrt{\alpha_2^2 + n^2}}$  die Form von  $n - 35,8 = \frac{J}{\sqrt{\alpha_2^2 + n^2}} \cdot 25,0^1$  hatte.

Tabelle I. Zeitdauer der Adaptation 20 Minuten.

$n$	$J$	$\frac{J}{\sqrt{\alpha_2^2 + n^2}} \cdot 25,0$	$n - 35,8$
81,6	120	40,7	45,8
69,1	85	30,4	33,3
62,2	75	29,8	26,4
62,0	80	31,8	26,2
60,9	60	24,2	24,2
52,1	49	23,0	16,3
47,7	35	18,0	11,9
41,4	10	5,75	5,7

Wenn wir die Kurve so konstruieren, wie das eben der Fall ist, so finden wir  $n_0 = 35,8$ , woraus  $N_0 = 5,7$  ist.

Für mein Auge gab  $N_0$  unter verschiedenen Bedingungen der Messung immer eine und dieselbe Größe. Bei andern Beobachtern kann  $N_0$  andere Werte haben. Eine Reihe von Beobachtungen der Gesetze des Flimmerns wurde von mir an einem Beobachter (Frl. *E. Prudnikova*) angestellt, bei welchem  $N_0 = 5$  ist.

*Über die Beziehungen der Zahl der Unterbrechungen des Lichts und die Stärke des Lichts  $J$ , das die Netzhaut beleuchtet.*

Wie aus der Formel III zu ersehen ist, muß zwischen der Größe  $(n - n_0)\sqrt{\alpha_2^2 + n^2}$  und der Lichtintensität  $J$  eine lineare Beziehung

<sup>1)</sup> Die Methode der Berechnung der Werte von  $\alpha_2$  ist in meiner Monographie: *P. Lasareff, Untersuchungen über die Ionentheorie der Reizung*. 100, Moskau 1916 russisch) oder *P. Lasareff, Recherches . . .*, 99, Moscou 1918 beschrieben ( $\alpha_2 = 9,75$ ).

bestehen, wenn nur  $C$  konstant bleibt, d. h. wenn die Adaptation sich nicht ändert. In der nachfolgenden Tabelle sind die Resultate meiner Beobachtungen auf diesem Gebiete angeführt ( $N = 5,7$ ).

*Tabelle II.* Adaptationszeit = 10 Minuten.

$N$	$J$	$(n - n_0)\sqrt{\alpha_2^2 + n^2}$	$\frac{(n - n_0)\sqrt{n^2 + \alpha_2^2}}{J}$
9,5	98	1680	17,1
7,4	36	700	19,4
7,1	32	620	19,4
6,5	25	400	16,0
			Mittel 17,4

*Tabelle III.* Adaptationszeit = 20 Minuten.

$N$	$J$	$(n - n_0)\sqrt{\alpha_2^2 + n^2}$	$\frac{(n - n_0)\sqrt{n^2 + \alpha_2^2}}{J}$
13,0	120	4150	34,6
10,0	85	2610	34,6
9,9	75	1920	25,6
9,7	60	1800	30,0
8,3	49	1110	22,8
7,6	35	800	22,8
			Mittel 28,4

*Tabelle IV.* Adaptationszeit = 35 Minuten.

$N$	$J$	$(n - n_0)\sqrt{\alpha_3^2 + n^2}$	$\frac{(n - n_0)\sqrt{\alpha_2^2 + n^2}}{J}$
8,7	30	1270	42,4
8,0	25	950	38,0
7,4	20	710	35,4
6,7	15	470	31,3
6,2	9	300	33,4
			Mittel 36,1

*Über den Einfluß der Adaptation auf die Zahl der Flimmerungen, welche eine kontinuierliche Erregung hervorrufen.*

Aus diesen bei verschiedenen Graden der Adaptation ausgeführten Versuchen läßt sich auch die Beziehung zwischen der Flimmerungszahl  $N$  und der Zeitdauer der Adaptation  $T$  ableiten.

Wie wir früher sahen, genügt der Grenzwert von  $N$  der Gleichung

$$(n - n_0)\sqrt{\alpha_2^2 + n^2} = RJC,$$

wobei die  $C$  Konzentration des Sehpurpurs im gegebenen Zeitpunkt bezeichnet. Wenn man annimmt, daß die Größe  $C$  nach voller Lichtadaptation gleich  $O$  wird, so ist die Konzentration des Pigments nach Verweilen

des an Licht völlig adaptierten Auges während der Zeit  $T$  im Dunkeln gleich

$$C = C_0(1 - e^{-\alpha_3 T}),$$

wobei  $C$  die Quantität des Pigments in der Netzhaut nach unendlich langem Verweilen im Dunkeln bezeichnet, während  $\alpha_3$  eine Konstante gleich 0,055 ist, wenn die Zeit der Adaptation  $T$  in Minuten ausgedrückt ist <sup>1)</sup>.

Aus diesen zwei Formeln und Messungen ergibt sich, daß

$$\frac{(n - n_0)\sqrt{\alpha_3^2 + n^2}}{J(1 - e^{-\alpha_3 T})} = R = \text{konst.}$$

Tabelle V.

$T$	$\frac{(n - n_0)\sqrt{\alpha_3^2 + n^2}}{J}$	$1 - e^{-\alpha_3 T}$	$\frac{(n - n_0)\sqrt{\alpha_3^2 + n^2}}{J(1 - e^{-\alpha_3 T})}$
10	17,7	0,42	42,6
20	28,4	0,67	42,4
35	36,1	0,85	42,5

Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist die Beziehung zwischen den obengenannten Größen tatsächlich linear, und die Größe  $\frac{(n - n_0)\sqrt{\alpha_3^2 + n^2}}{J(1 - e^{-\alpha_3 T})}$  ist konstant.

In meinen vorhergehenden Arbeiten<sup>2)</sup>, die die Theorie der Flimmererscheinungen behandeln, habe ich mich zur Kontrolle der theoretisch gewonnenen Gleichungen der bei homogenen Strahlen vorgenommenen Versuche *Schaternikoffs* bedient. Hierbei ist in Ermangelung genauer Daten betreffs der Größe  $N_0$  und wegen der Unmöglichkeit, diese zu bestimmen, da die Größe  $J$  unbekannt ist,  $N_0 = 0$  angenommen worden, bei welcher Annahme sich denn auch eine Übereinstimmung von der Theorie mit dem Versuch ergab. Da die eben angeführten Versuche zeigen, daß  $N_0$  nicht gleich Null ist, so sind die Resultate von *Schaternikoff* einer Neuausrechnung unterworfen worden, die folgendes Ergebnis bei  $N_0 = 5$  und  $N_0 = 5,7$  geliefert hat: ( $N_0 = 5,7$  fand man für mein Auge,  $N_0 = 5$  für das Auge von Fr. *E. S. Prudnikova*).

Die Resultate dieser Ausrechnungen sind in den Tab. VI und VII angeführt. Der Wert von  $n_\infty$  in den Tabellen entspricht dem Werte von  $n$  bei  $T = \infty$ .

<sup>1)</sup> Die Methode der Berechnung von  $\alpha_3$  ist in meiner Monographie: Untersuchungen usw. oder Recherches . . . beschrieben. Vgl. auch *J. Schechtmann*, Die Untersuchung der Theorie der Adaptation von *P. Lasareff*, Bericht des phys. Inst. des wissensch. Instituts zu Moskau **1**, 70. 1920 (russisch).

<sup>2)</sup> *P. Lasareff*, Untersuchungen über die Ionenheorie der Reizung. Moskau 1916 (russisch).



Tabelle VI. ( $\lambda = 510,5 \mu\mu.$ )

$T$	$N$	$\frac{(n - n_0) \sqrt{\alpha_2^2 + n^2}}{(N_0 = 5) (N_0 = 5,7)}$		$\frac{(n - n_0) \sqrt{\alpha_2^2 + n^2}}{(n_\infty - n_0) \sqrt{\alpha_2^2 + n_\infty^2}}$		$1 - e^{-\alpha^2 T}$
		$N_0 = 5$	$N_0 = 5,7$	$N_0 = 5$	$N_0 = 5,7$	
10	11,4	2900	2500	0,37	0,34	0,42
15	13,4	4480	4070	0,57	0,55	0,56
25	14,4	5650	5410	0,74	0,72	0,75
35	15,7	6670	6180	0,86	0,84	0,84
50	16,2	7200	6710	0,92	0,91	0,94
70	16,4	7400	6910	0,95	0,94	0,98
90	16,7	7700	7270	0,99	0,99	0,99
$\infty$	16,8					

Tabelle VII. ( $\lambda = 589 \mu\mu.$ )

$T$	$N$	$\frac{(n - n_0) \sqrt{\alpha_2^2 + n^2}}{(N_0 = 5) (N_0 = 5,7)}$		$\frac{(n - n_0) \sqrt{\alpha_2^2 + n^2}}{(n_\infty - n_0) \sqrt{\alpha_2^2 + n_\infty^2}}$		$1 - e^{-\alpha^2 T}$
		$N_0 = 5$	$N_0 = 5,7$	$N_0 = 5$	$N_0 = 5,7$	
10	11,3	2800	2450	0,43	0,37	0,42
15	12,4	3650	3320	0,56	0,50	0,56
25	13,8	4810	4440	0,73	0,67	0,75
35	14,1	5100	4700	0,78	0,71	0,84
50	15,0	5550	5500	0,84	0,82	0,94
70	15,4	6370	6100	0,97	0,92	0,98
90	15,5	6470	6500	0,99	0,99	0,99
$\infty$	15,6					

Wie aus den Tab. VI und VII zu ersehen ist, erhalten wir überaus befriedigende Resultate bei der Annahme, daß  $N_0 = 5$ . (Bei  $N_0 = 5,7$  stimmen die Resultate schlechter überein.)

Nach der von mir entwickelten Theorie muß die Beziehung beim monochromatischen Lichte  $\frac{(n - n_0) \sqrt{\alpha_2^2 + n^2}}{J \cdot k}$  ( $k$  bedeutet eine Absorptionskonstante) unabhängig von der Wellenlänge des  $\lambda$ -Lichtes sein. Es wäre deshalb interessant, die Flimmererscheinungen im monochromatischen Lichte zu untersuchen, und wir geben in der nachfolgenden Tabelle die Resultate von Beobachtungen von *M. Polikarpov*<sup>1)</sup>, welche in meinem Laboratorium ausgeführt wurden.

Tabelle VIII.

$\lambda = 589 \mu\mu$		$T = 10 \text{ Min.}$		$N_0 = 9,1$	
$N$	10	11,1	11,8	13,3	
$J \times 10^{10}$	1700	3100	5200	7500	
$\frac{(n - n_0) \sqrt{\alpha_2^2 + n^2}}{J}$	0,23	0,29	0,24	0,31	Mittel 0,27

<sup>1)</sup> *M. Polikarpov*, Bericht des Phys. Inst. des Wissensch. Instituts zu Moskau **1**, 187. 1921.

<sup>2)</sup> *W. Trendelenburg*, Zeitschr. f. Physiol. u. Psychol. der Sinnesorg. **37**, **1**. 1904; vgl. auch *P. Lasareff*, Untersuchungen usw., **91**.

$\lambda = 535 \mu\mu$	$T = 10 \text{ Min.}$			$N_0 = 8,7$		
$N$	10,8	11,6	13,2	14,3	15,0	
$J \times 10^{10}$	750	1010	1680	1960	2430	
$\frac{(n - n_0)\sqrt{\alpha_2^2 + n^2}}{J}$	1,2	1,3	1,3	1,6	1,5	Mittel 1,4

Wenn wir die Werte  $k$  aus *Trendelenburgs*<sup>2)</sup> Beobachtungen entnehmen, so erhalten wir  $k$  für  $\lambda = 535 = 0,41$  und für  $589 = 0,05$ . Daraus erhalten wir

$$\frac{(n - n_0)\sqrt{\alpha_2^2 + n^2}}{kJ}$$

$$\lambda = 535 \mu\mu \quad 3,4$$

$$\lambda = 583 \quad 5,4 \quad \text{Mittel } 4,4$$

Mit der Genauigkeit von etwa 23% können wir die entwickelte Theorie auch in diesem Fall als vollkommen bestätigt betrachten.

Meinen Mitarbeitern Frl. *E. Prudnikova* und Herrn *M. Polikapov* spreche ich an dieser Stelle meinen besten Dank aus.

# Beiträge zum Studium des vegetativen Nervensystems.

## III. Mitteilung.

### Der Einfluß des Vestibularapparates auf das Gefäßsystem<sup>1)</sup>.

Von

E. A. Spiegel und Th. D. Démétriades.

(Aus dem Neurologischen Institut der Universität Wien.)

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Mai 1922.)

Die Reflexe, die vom Ohrlabyrinth ausgelöst werden, haben bisher fast nur in ihrer Wirkung auf die quergestreifte Muskulatur die Aufmerksamkeit der Kliniker und Physiologen auf sich gelenkt. Nicht minder beachtenswert erscheint aber die Einwirkung des Vestibularapparates auf das vegetative Nervensystem, eine Einwirkung, die sich schon bei oberflächlicher Betrachtung in dem nach Vestibularisreizung auftretenden Erblassen der Versuchsperson, in der Neigung zum Erbrechen kundgibt.

Von den Untersuchungen, welche über diese Fragen im Gange sind, sei zunächst über eine Versuchsreihe berichtet, welche die bei Labyrinthreizung zu beobachtenden Erscheinungen seitens des Gefäßsystems analysieren sollte.

Die bisherigen Angaben der Literatur über den Einfluß des Ohrlabyrinths auf das Gefäßsystem sind recht spärlich. *Finkelburg*<sup>2)</sup> untersuchte an Menschen mittels der von *Strasburger* u. a. geübten Methode der Bestimmung des maximalen und minimalen Druckes mit dem Riva-Roccaschen Apparat fortlaufend hintereinander systolischen und diastolischen Druck im Sitzen, weiter im Stehen, sowohl während die Versuchsperson sich an die Wand anlehnte, als auch wenn sie frei stand und Augen und Füße geschlossen hielt, schließlich beim Bücken. Er fand bei Gesunden und bei den meisten untersuchten Neurasthenikern nur beim Bücken, wie nach jeder körperlichen Anstrengung ein vorübergehendes Ansteigen von Maximal- und Minimaldruck, sonst aber keine Veränderungen, ob die Personen angelehnt oder frei oder mit geschlossenen Augen und Füßen standen. Bei organischen Erkrankungen des Nervensystems (Tabes, Hirntumor, multiple Sklerose) und des Hörapparates, die mit Schwindel einhergehen, fand sich beim Sitzen und angelehnten Stehen keine Blutdruckschwankung. Sobald sich aber bei freiem Stehen mit oder ohne Augenschluß starkes Schwindelgefühl einstellte, zeigte sich bei gleichbleibendem oder nur vorübergehend gesteigertem Gesamtdruck ein erhebliches Ansteigen des diastolischen Minimaldruckes. Der Pulsdruck (= systol. Druck minus diast. Druck)

<sup>1)</sup> Mitgeteilt in d. Ges. d. Ärzte, Wien, 31. III. 1922.

<sup>2)</sup> *Finkelburg*, Münch. med. Wochenschr. 1906, S. 238.

wird demnach geringer. Es verkleinert sich also auch der Blutdruckquotient (Pulsdruck durch Gesamtdruck) während der Dauer des Schwindels. In dieser Verkleinerung des Blutdruckquotienten bei steigendem oder gleichbleibendem Maximaldruck sieht er mit *Strasburger* einen Beweis für eine Erhöhung des Gefäßtonus ohne wesentliche Veränderung der Herzarbeit. Nur in einzelnen Fällen, wenn nämlich der Gesamtdruck beim Schwindel gleichzeitig sinkt, würde auch noch eine Verringerung der Herzarbeit vorliegen. Denn Verkleinerung des Blutdruckquotienten und gleichzeitiges Sinken des Blutdruckes bedeutet Erhöhung des Gefäßtonus und Verringerung der Herzarbeit. Ohne daß hier auf die Frage näher eingegangen werden soll, inwiefern sich aus dem Verhältnis des Pulsdruckes zum Gesamtdruck sichere Schlüsse auf eine Änderung des Gefäßtonus resp. der Herzarbeit ableiten lassen, sei nur darauf hingewiesen, daß der Autor selbst beschreibt, daß sich das Auftreten des Schwindels bei seinen Versuchspersonen in Schwankungen des Körpers dokumentierte, daß diese Personen also sicherlich unwillkürliche Reaktionsbewegungen ausführten, welche auf die Resultate der Blutdruckmessung natürlich nicht ohne Einfluß gewesen sein konnten. Für unsere Frage nach dem Einfluß des Vestibularapparates auf den Blutdruck erscheinen daher die Ergebnisse dieser Arbeit wenig verwertbar, zumal ja bei einem Teil der Fälle *Finkelburgs* (z. B. *Tabes*) der Schwindel überhaupt nicht rein vestibulärer Herkunft gewesen sein kann.

Über recht merkwürdige Resultate berichtet *Camis*<sup>1)</sup>. Er reizte bei Hunden nach einseitiger oder bilateraler Labyrinthexstirpation den zentralen Stumpf des Vagus-Sympathicus und schrieb den Carotidruck und das Plethysmogramm der hinteren Extremitäten; während normalerweise bei Senkung des Carotidruckes das Plethysmogramm eine Vasodilatation, bei Blutdrucksteigerung eine Vasokonstriktion an der Extremität anzeigt, fand er nach Entfernung des Labyrinths auf der operierten Seite eine Volumsverminderung bei Blutdrucksenkung, einen Volumenzunahme der Extremitäten bei Blutdrucksteigerung. Er stellt sich vor, daß die Zerstörung des Labyrinths die funktionelle Ausschaltung des Vasoconstrictorenzentrums zur Folge habe und vergleicht die Folgen der Labyrinthausschaltung mit denen der Entfernung der Bauch-Sympathici, denn auch im letzteren Falle findet man nach *Bayliss*<sup>2)</sup> das Fallen des Blutdruckes nach Reizung des zentralen Vagusendes von einer Verminderung des Volumens der Extremitäten begleitet. Er meint also, nach doppelseitiger Labyrinthexstirpation kommen ähnliche Erscheinungen zustande wie bei Tieren, bei welchen die Innervation der Vasoconstrictoren für die hinteren Extremitäten durch die Zerstörung des Bauchsympathicus vernichtet ist. Leider fehlt eine nähere Analyse der von dem Autor beschriebenen Erscheinungen. Er gibt z. B. nicht an, ob er diesen paradoxen Effekt der Reizung des zentralen Vagusstumpfes nur dann erhielt, wenn er den Vagus auf der Seite der Labyrinthexstirpation reizte, oder ob er diese Wirkung auch von der Gegenseite auslösen konnte, ferner, wie sich das Extremitätenvolumen bei Reizung anderer Nervenstämmе verhielt. So muß er denn auch selbst zugeben, daß er von einer Ausschaltung des Vasoconstrictorenzentrums nur aus „*commodité de langage*“ spreche, da ebensogut das Zentrum, wie afferente oder efferente Bahnen lädiert sein können. Wenn man bedenkt, daß bei der vom Autor geübten Labyrinthexstirpation die zahlreichen durch das Mittelohr ziehenden Nerven des Plexus tympanicus vernichtet worden sein müssen, deren etwaige Beteiligung am Zustandekommen der geschilderten Phänomene der Autor nicht einmal in Erwägung zieht, wird man daher diese Arbeit nur mit Vorsicht für den Nachweis etwaiger Beziehungen des Labyrinths zum Gefäßsystem heranziehen können.

1) *Camis*, Arch. de biol. 57, 439. 1912.

2) *Bayliss*, W. M., Journ. of physiol. 28, 276. 1902.

Unsere Versuche wurden an 55 Kaninchen ausgeführt, der Blutdruck an den in Urethan-Äther-Narkose befindlichen Tieren an der Arteria carotis communis in der gewöhnlichen Weise mit einem Quecksilbermanometer registriert. Als Reiz wurde zunächst die Spülung des äußeren Ohres mit kaltem, resp. warmem Wasser verwendet; weiterhin wurde aber zur Erzielung eines wirksameren Reizes die Kanüle des Irrigators direkt ins Mittelohr eingeführt, das entweder nach Freilegung der Bulla ossea vom Halse aus oder nach Abtragung des äußeren Gehörganges eröffnet wurde. Abb. 1 zeigt die Wirkung einer Spülung mit kaltem Wasser, Abb. 2 den viel stärkeren Effekt des warmen Wassers.

Die Senkung des Blutdruckes, die sowohl bei Kalt- wie bei Warmspülung der Bulla ossea zu beobachten ist, tritt ziemlich rasch nach Beginn des Reizes ein. Das Wiederansteigen der Kurve erfolgt dagegen viel allmählicher, so daß die Depression des Blutdruckes ziemlich lang, bis zu 50 Sekunden, bestehen bleiben kann. In einigen Fällen ist die Depression von einer leichten Steigerung des Blutdruckes gefolgt, indem der aufsteigende Schenkel der Kurve schließlich das ursprüngliche Niveau überschreitet.

Was das Verhältnis dieses Reflexes zum Auftreten des Nystagmus anlangt, so geht der Beginn der Blutdrucksenkung demselben um einige Sekunden voraus; im Moment, wo die alte Blutdruckhöhe wieder erreicht ist, hat meist der Nystag-



Abb. 1. Spülung der Bulla mit 19° igem Wasser. ↓ Beginn, ↑ Ende der Spülung; xN = Beginn, xNex = Ende des Nystagmus. Alle Kurven sind von rechts nach links zu lesen.



Abb. 2. Spülung der Bulla ossea mit 52° igem Wasser. ↓ Beginn, ↑ Ende der Spülung; xN Beginn, xNex Ende des Nystagmus.

mus schon aufgehört. Er kann aber diesen Zeitpunkt auch überdauern.

Die gleiche Wirkung auf den Blutdruck ließ sich auch durch galvanische Reizung erzielen. Nachdem, ähnlich wie für die kalorische Reizung der äußere Gehörgang abgetragen<sup>1)</sup> und weiterhin die mediale Wand des Mittelohres durch Aufmeißelung freigelegt war, wurde die Kathode an die Prominenz des äußeren Bogenganges angelegt. Schon bei 2 Milliamp. ließ sich ein ziemlich steiles Absinken der Blutdruckkurve feststellen, die erst allmählich wieder die Norm erreichte (Abb. 3).

Bei der Analyse dieses depressorischen Effektes ist zunächst zu untersuchen, inwiefern die Reizung der Schleimhaut des Mittelohres resp. der hier durchziehenden Fasern des Plexus tympanicus eine Rolle spielt.

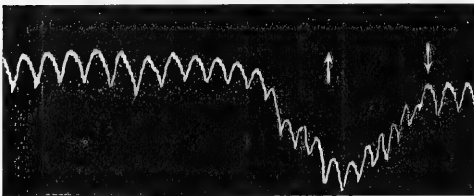


Abb. 3. Galvanischer Reiz. Kathode am äußeren Bogengang. 3 MA. ↓ Beginn, ↑ Ende der Reizung.

Eine Wirkung auf den Nerv. trigeminus konnte dadurch ausgeschlossen werden, daß bei Spülung der Conjunctiva bulbi mit heißem Wasser eine leichte Blutdrucksteigerung erfolgte. Auch der Gedanke, daß die Blutdrucksenkung Folge einer durch die Wärme bedingten

Gefäßerschließung sei, mußte zurückgewiesen werden, da ja sowohl Wärme als auch Kaltspülung und auch galvanische Reizung den Effekt hervorbrachten und ferner weder Berieselung der Ohrmuschel, noch der Bauchhaut mit warmem Wasser eine ähnliche Depression des Carotidruckes verursachte. Die Tatsache, daß durch die kalorische Reizung der Bindehaut des Auges oder der Ohrmuschel sogar eine Steigerung des Blutdruckes erzielt wurde, zeigt wohl auch, daß in dem Stadium der Urethan-Äther-Narkose, in welchem die Blutdrucksenkung nach Ausspritzung der Bulla zu beobachten war, noch keineswegs eine Lähmung vasoconstrictorischer Reflexe eingetreten war, was übrigens durch die prompte pressorische Wirkung einer faradischen Reizung des N. ischiadicus bewiesen werden konnte.

<sup>1)</sup> Das Ohr wird in der Richtung gegen das kontralaterale Auge gezogen, der Hautschnitt entsprechend dem palpablen Übergang des knorpeligen in den knöchernen Gehörgang von vorn nach hinten unten in einer Länge von 5 cm geführt, der knöcherne Gehörgang freigelegt, der knorpelige abgetrennt und nach Abschiebung des Periosts die obere und hintere Wand des knöchernen Gehörgangs mit dem angrenzenden Teil der Schuppe mit dem Meißel abgetragen, die untere und vordere Wand vorsichtig unter Vermeidung einer leicht eintretenden Splitterung der Bulla mit einer feinen Knochenzange abgezwickelt. Am Übergang der oberen zur hinteren Circumferenz ist die Öffnung des dort liegenden Emissariums zu vermeiden. So liegt schließlich die mediale Wand des Mittelohres frei.

Schwieriger ist es dagegen, die Beziehung der beobachteten Drucksenkung zum N. depressor vagi resp. zum N. glossopharyngeus klarzulegen. Bspülung des N. depressor mit warmen resp. kaltem Wasser verursachte eine ganz ähnliche Wirkung, wie sie bei der Ausspritzung der Bulla ossea geschildert wurde und auch von seiten des N. glossopharyngeus sind depressive Wirkungen bekannt [Knoll<sup>1</sup>]. Es mußte darum daran gedacht werden, ob die beobachtete Blutdrucksenkung nicht auf eine Reizung von Fasern der Glossopharyngeus-Vagus-Gruppe zurückzuführen sei, welche mit dem Mittelohr in Beziehung treten.

Es schien daher nötig, die Kalorisierung der Bulla nach Ausschaltung der vom Labyrinth ausgehenden Erregungen durchzuführen. Die Labyrinthextirpation konnte zu diesem Zwecke nicht gewählt werden, weil bei dieser Operation die durch das Mittelohr über das Promontorium ziehenden Nerven des Plexus tympanicus mit zerstört werden.

Wir entschlossen uns daher zur intrakraniellen Durchschneidung des N. octavus.

Zwei Wege konnten zu diesem Zwecke gewählt werden. Erstens jener durch den Flocculus, wie er von *Ferrier* und *Turner*<sup>2</sup>), *Leidler*<sup>3</sup>) geübt wurde und zweitens den Zugang von der Membrana atlanto-occipitalis<sup>4</sup>). Der erstere Weg hat den Vorteil, daß größere Blutungen vermieden werden, sein Nachteil liegt darin, daß man, durch den Flocculus hindurchstehend, nicht sieht, welche Gebilde man eigentlich in der Tiefe zerstört und Nebenverletzungen setzen kann, welche auch die nachfolgende Sektion nicht immer klarstellt. Wir wählten darum den zweiten Weg, den Zugang von der Membrana atlanto-occipitalis, weil sich auf diese Weise das Operationsfeld viel klarer überblicken läßt. Allerdings wird der Erfolg dieser Operation oft durch beträchtliche Blutungen gefährdet, die von den meningealen Plexusgefäßen des 4. Ventrikels, insbesondere aber von den längs des Os petrosum verlaufenden Blutleitern her drohen und oft erst nach gelungener Operation und Verschuß der Wunde bei einer Rollbewegung des Tieres oder einem Stoß seines Kopfes gegen die Wand des Käfigs zum Tode des Versuchstieres führen. Wir suchten auf folgendem Wege eine möglichst gute Ansicht des Operationsfeldes zu gewinnen, ohne von Blutungen zu sehr gestört zu werden<sup>5</sup>).

Nach Freilegung der Membrana atlanto-occipitalis in der üblichen Weise (Hautschnitt von der Protuberantia occip. ext. abwärts, Ablösung der Nackenmuskulatur einer Seite vom Hinterhauptbein) wurde diese Membran zunächst nicht eröffnet, sondern vorerst die Lamina externa des an die Membran nach vorn angrenzenden Teiles des Os occipitale einer Seite bis zum Schläfenbein hin vorsichtig mit dem Meißel abgetragen (Abb. 4a), weiterhin die Diploe und die Lamina vitrea mit der Alexanderschen Curette entfernt, so daß in Fortsetzung der Membrana atlanto-occipitalis bis zum Os petrosum hin ohne Eröffnung der venösen Blutleiter

<sup>1</sup>) Knoll, Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wiss. **92** (III), 449. 1885.

<sup>2</sup>) *Ferrier* u. *Turner*, Phil. Transact. Roy. Soc. of London **190**, B. 1. 1898.

<sup>3</sup>) *Leidler*, Arb. a. d. Wien. Neurol. Institut **21**, 151. 1916.

<sup>4</sup>) Vgl. *Trendelenburg*, Handb. d. phys. Method. von *Tigerstedt* **3**, 2, 105. 1912.

<sup>5</sup>) Herr Geh. R. *Bethe* macht uns freundlichst darauf aufmerksam, daß *Landolt* in seiner Habilitationsarbeit „Über die Innervation der Thränendrüse“. Pflügers Arch. **98**, 189 (206). 1903 die Durchschneidung des Acusticus, resp. Facialis auf diesem Wege vorgenommen hat.

die bindegewebige Bedeckung des 4. Ventrikels frei lag, unter der man den Strickkörper dieser Seite, die Fossa rhomboidalis und den Unterwurm durchschimmern sah. Erst jetzt wurde die Membran gespalten und der entstehende Schlitz unter sorgfältiger Vermeidung der durchschimmernden Venen nach vorn zu erweitert.

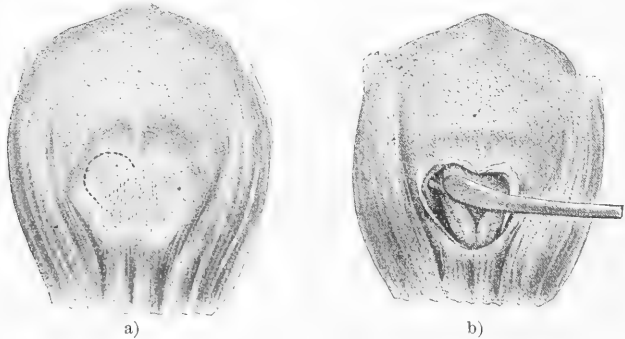


Abb. 4 a und b. a) Die Membrana atlanto-occipitalis freigelegt, der an dieselben angrenzende Teil des Occipitale, der zur Darstellung des Nerv. acusticus abgetragen werden muß, ist durch die punktierte Linie begrenzt. b) Rautenhirn und Unterwurm sind bloßgelegt und werden durch einen Spatel von der Felsenbeinpyramide abgedrängt, so daß die in den Porus acusticus eintretenden Nerven sichtbar werden.

Mit einem schmalen Spatel wurden nun vorsichtig Medulla oblongata und Unterwurm von der medialen Wand der Felsenbeinpyramide abgetrennt und damit ein Zugang zum Porus acust. int. gewonnen (Abb. 4 b). Erst wenn auf diese Weise die in den Meatus acusticus eintretenden Nerven dargestellt waren, wurden sie mit einem gekrümmten Messerchen durchschnitten.

Der Erfolg der Operation ließ sich an den nachher eintretenden Rollbewegungen, dem Spontannystagmus, der durch kalorische Reizung der operierten Seite unbeeinflusst blieb und durch die gleichseitige Facialisparese kontrollieren. Nach durchgeführtem Versuch erfolgte selbstverständlich die anatomische Kontrolle, die am besten gelingt, wenn man den Schädel in einer Frontalebene vor dem äußeren Gehörgang durchsägt. Der Schnitt fällt knapp vor den Porus acust. int., so daß sich leicht durch Abheben der Oblongata von der Pyramide des Felsenbeins das Erhaltenbleiben resp. Fehlen von Nerven, die in den Porus eintreten, kontrollieren läßt. Dies sei besonders hervorgehoben, da *Ewald*<sup>1)</sup> die Unsicherheit der anatomischen Kontrolle der Acusticusdurchschneidung hervorhebt.

Sobald sich das Tier einigermaßen von der Operation erholt hatte, wurde die Bulla ossea beiderseits eröffnet, in jede eine Kanüle eingeführt, die abwechselnd mit warmem und kaltem Wasser durchspült werden konnte und der Druck wieder von der Carotis geschrieben. Man sah den typischen Effekt bei Reizung auf der nicht operierten Seite sowohl bei Warmspülung als auch, wenn auch weniger ausgesprochen,

<sup>1)</sup> *Ewald* im Handb. d. physiol. Method. v. Tigerstedt 1912.



bei Kaltspülung, sein Ausbleiben bei Reizung auf der Seite der Operation. Damit ist allerdings der strenge Beweis, daß die beobachtete Blutdrucksenkung nach Warm- resp. Kaltspülung der Bulla ossea allein auf eine Vestibulariswirkung zurückzuführen sei, nicht erbracht. Es läßt sich die Möglichkeit nicht ausschließen, daß Fasern des Plexus tympanicus, die durch Vermittlung einer Anastomose mit dem Ganglion Geniculi den N. intermedius zum Eintritt in das Gehirn benützen, am Zustandekommen dieses Reflexes beteiligt sind; denn die Durchschneidung des N. vestibularis läßt sich ja isoliert an den Versuchstieren, die uns zur Verfügung standen, nicht durchführen. Wir können demnach nach den Durchschneidungsversuchen eine Mitbeteiligung der Fasern des Plexus tympanicus, die mit dem N. intermedius centripetal verlaufen, an der erzielten Blutdrucksenkung nicht mit Sicherheit ausschließen.

Es ist darum notwendig, einen Reiz zu setzen, der den N. vestibularis allein trifft. Dies kann aber nur die Erzeugung einer Endolymphströmung auf mechanischem Wege sein. Anfangs wurden Fistelversuche angestellt, indem die mediale Wand des Mittelohres in der oben beschriebenen Weise vom äußeren Gehörgang aus freigelegt und nun in das Promontorium resp. in die Wand des äußeren Bogenganges ein kleines Loch gemeißelt und in dieses eine stumpfe Kanüle eingelegt wurde, die mit einem Gummiballon in Verbindung stand. Durch einen mit dem Gummiballon erzeugten Luftstrom gelang es wohl, einzelne Zuckungen der Augen, einmal auch eine typische Blutdrucksenkung zu erzielen. Die Unsicherheit der Erzeugung einer Fistel ohne Öffnung des peri- resp. endolymphatischen Raumes ließ uns jedoch bald diese Methode verlassen und daran denken, die Endolymphströmung durch Drehung des Tieres zu erzeugen. Es mußte darum eine Methode erdacht werden, um den Blutdruck des Tieres zu schreiben, während dasselbe in Drehung versetzt wurde. Hierzu diente folgende Versuchsanordnung (Abb. 5).

Am Fuß eines Kaninchenbrettes ist entsprechend dessen Längsachse eine in eine Kurbel endigende Eisenstange befestigt, während an der Kopfseite eine kreisrunde Scheibe derart fixiert ist, daß ihr Mittelpunkt in der Fortsetzung der Längsachse des Brettes liegt. Stange und Scheibe gleiten in entsprechenden Vertiefungen zweier Holzblöcke, so daß bei Drehung der Kurbel das Brett mit dem angeschnallten Tier ungehindert um die Längsachse gedreht werden kann, der Mittelpunkt der Kreisscheibe dagegen seine Lage im Raume beibehält. Durch den Mittelpunkt der Scheibe geht ein Metallrohr, das in Fortsetzung der Längsachse des Brettes verläuft und in seiner Höhlung ein Glasrohr trägt, das nach doppelter Biegung am Kaninchenbrett fixiert ist und mittels eines kurzen Schlauchstückchens mit der in der Carotis befindlichen Kanüle in Verbindung steht. Dreht man also das Tier, so dreht sich das in der Metallhülse befindliche Glasrohr, ohne sonst seine Lage im Raum zu verändern. Dieses Glasrohr steht mit einer an der Außenseite geschliffenen Glasröhre in Verbindung, welche mit möglichst geringer Reibung in einem an der Innenfläche geschliffenen genau anliegenden Rohr gleitet (diese Vorrichtung läßt sich aus einer Luer-Spritze improvisieren). Das Außenrohr ist in einem Stativ fixiert

und steht mit dem Manometer in Verbindung; dadurch, daß das Innenrohr allein die Drehung des Brettes mitmacht, ist es demnach möglich, auch während der Drehung den Blutdruck zu schreiben. Es ist nur noch nötig, eine gegenseitige

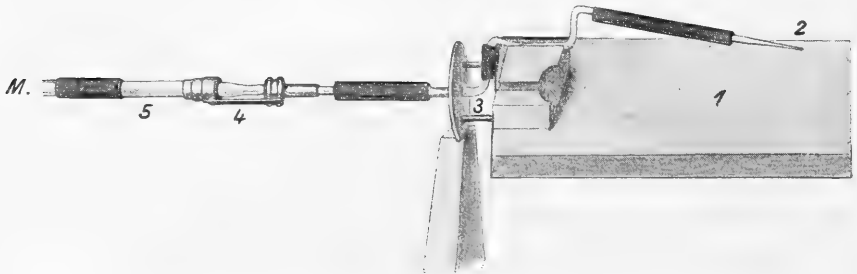


Abb. 5. Apparat zur Blutdruckschreibung während der Drehung des Versuchstieres. 1 Kaninchenbrett, 2 Carotis-Kanüle, 3 Verbindungsstück in der Drehachse, 4 inneres, rotierendes, 5 äußeres, fixiertes Glasrohr, M Verbindung mit dem Manometer.

Verschiebung der beiden Rohre in der Längsrichtung zu vermeiden, da jede derartige Verschiebung durch Änderung des Volumens sofort den am Manometer registrierten Druck beeinflussen muß. Deshalb ist an dem Außenrohr eine Stahlfeder angebracht, welche einen konisch zugespitzten Stift trägt, der in einer am Innenrohr befestigten Rinne läuft.

Immerhin waren auch trotz dieser Vorrichtung kleine Schwankungen des Druckes bei jeder Drehung zu beobachten, über deren Größe die Kontrollkurve (Abb. 6) Auskunft gibt. Diese Kurve wurde in der Weise



Abb. 6. Kontrollkurve. Manometerschwankungen bei Drehung eines im Apparat (Abb. 5) liegenden, toten Kaninchens. Druck 30 mm Hg.

gewonnen, daß die Kanüle in die Carotis eines toten Kaninchens eingebunden, das ganze System so lange mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung gefüllt wurde, bis ein bleibender Überdruck im Manometer (30 mm Hg) erzielt wurde. Nun wurde das Brett in anfangs langsame, weiterhin immer rascher werdende Drehungen versetzt, deren letzte, zehnte mit plötzlichem Anhalten geschlossen wurde. Es wurde also dieselbe Art der Drehung geübt, wie sie weiterhin am lebenden Tier zur Anwendung kam. Die Kurve zeigt, daß wohl jeder einzelnen Drehung eine Schwankung des Manometers entspricht, daß aber nach jeder Drehung und auch am Schluß aller 10 Drehungen das Manometer wieder den gleichen Druck wie vor dem Versuch anzeigt. Die Bilder, welche durch Drehen eines Versuchstieres gewonnen werden, geben demnach, abgesehen von den jeder Einzeldrehung entsprechenden Schwankungen, den im Flüssigkeitssystem Tier-Apparat herrschenden Druck wieder.

Abb. 7 zeigt den Erfolg von 12 Drehungen an einem normalen Kaninchen, wieder während einer Urethan-Äther-Narkose. Die Kurve hat einen ähnlichen Verlauf wie die bei kalorischer Reizung gewonnene.

Sie zeigt nur insofern Modifikationen, als die Blutdrucksenkung einmal schon während der Drehung einsetzt, um nach deren Aufhören einige Zeit bestehen zu bleiben und allmählich sich wieder zurückzubilden, ein andermal die Senkung erst nach dem Sistieren der Drehung eintritt

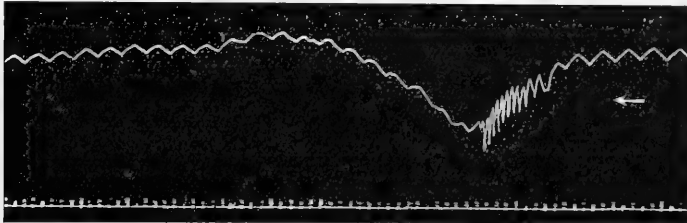


Abb. 7. Normales Kaninchen wird 12 mal nach rechts gedreht. Blutdruck 160 mm Hg. Zeit in Sekunden.

(Abb. 8), in seltenen Fällen schließlich die während des Drehens auftretende Depression nach dem Einhalten der Bewegung noch weiter fortschreitet, um dann wieder in sanft ansteigender Kurve dem normalen Druck Platz zu machen. Bei Abstufung des Reizes durch Variation der Zahl der Drehungen zeigte sich, daß sogar schon eine einzige Drehung genügt, um die Blutdrucksenkung auszulösen<sup>1)</sup>. Bei weiterer Steigerung

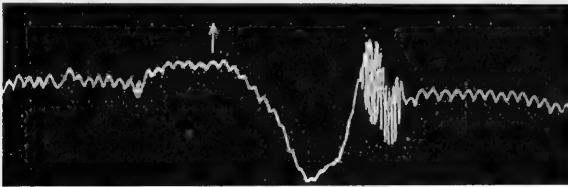


Abb. 8. Blutdrucksenkung erst am Ende der Drehung. Der Nachnystagmus dauert bis zu ↑.

der Drehungszahl konnte man bei manchen Tieren wieder ein Geringwerden der Depression beobachten. Es scheint demnach, daß, ähnlich wie dies *Brünings*<sup>2)</sup> für die Wirkung des Vestibularapparates auf die quergestreifte Muskulatur gezeigt hat, schon minimale Reize einen Einfluß auf den Blutdruck auszuüben vermögen, daß es aber bei Steigerung des Reizes, wie *Kobrak*<sup>3)</sup> bei abgestufter kalorischer Reizung erst jüngst

<sup>1)</sup> Ein solcher Versuch ist in unserer vorläufigen Mitteilung auf dem Wiesbadner Kongreß d. D. Ges. d. Hals-, Nasen- u. Ohrenärzte (S. Z. f. Hals-, Nasen- u. Ohrenheilkunde 1922) reproduziert.

<sup>2)</sup> *Brünings*, Verhandlg. d. Deutsch. Ges. d. Hals-, Nasen- und Ohrenärzte. Nürnberg 1921.

<sup>3)</sup> *Kobrak*, Beitrag zur Lehre von d. stat. Funktionen d. menschl. Körpers. Berlin 1922, Karger. — Derselbe, Beiträge von Passow-Schaeffer II. 1918.

für den Nystagmus zeigte, zu einer „Dämpfung“ dieser Wirkung kommen kann.

Was den Wiederanstieg der Blutdruckkurve anlangt, so erfolgt dieser, wie schon bemerkt, meist viel langsamer als die Senkung. Oft zeigt sich ferner, daß der aufsteigende Schenkel der Kurve, ähnlich wie wir es schon bei der kalorischen Reizung erwähnt haben, schließlich die ursprünglich vor dem Versuch beobachtete Höhe überschreitet, die anfängliche Blutdrucksenkung also einer leichten Steigerung Platz macht (Abb. 9), ein Phänomen, das vielleicht der von *Sherrington*<sup>1)</sup>



Abb. 9. Die während der Drehung auftretende Depression ist von einer leichten Blutdrucksteigerung gefolgt. ↓ Nachnystagmus nach 12 Rechtsdrehungen.

beschriebenen sekundären Induktion analog zu setzen ist; ähnlich wie bei dem von diesem Autor beschriebenen Beugungsreflexe des Hundes die zur Zeit der Beugung durch reflektorische Hemmung erschlafften Extensoren nach dem Aufhören der Tätigkeit der Flexoren in eine lebhaft Kontraktion geraten, so daß der Reflex biphasisch wird, also die Hemmung des Extensorenzentrums von einer Erregung gefolgt ist, sehen wir auch hier die anfängliche Depression des Blutdruckes in eine leichte Steigerung übergehen.

Wir finden demnach, daß auch durch Drehung des Tieres Blutdrucksenkung eintritt, ein Effekt, der sowohl beobachtet wurde, wenn Körper und Mundspalten — Hinterhauptachse des Tieres in einer Geraden lagen, als auch, wenn dieselben in senkrechter Stellung zueinander fixiert wurden. Es fragt sich, ob diese Depression tatsächlich als reflektorische Wirkung der durch die Drehung erzielten Vestibularisreizung aufzufassen sei oder ob sie nicht auf anderem Wege, vielleicht durch eine peripher bedingte Erschlaffung der Gefäßwand oder durch eine Reizung anderer sensibler Nerven zustande komme. Es ist ja wahrscheinlich, daß durch die Rotation die Strömung des Blutes in den Gefäßen nicht unbeeinflusst bleibt, und diese Veränderung der Strömung könnte einen Reiz abgeben, der die Gefäßwand zur Erschlaffung veranlaßt. Diese Möglichkeit wird aber dadurch ausgeschlossen, daß nach Unterbrechung der weiter unten noch zu erörternden zentrifugalen Wege der beobachteten Vestibularis-Gefäßreaktion, also nach Abtrennung der bei diesem Reflex sich er-

<sup>1)</sup> *Sherrington*, Integr. action, 206. 1908 und *Folia neurobiologica* 1, 356. 1908.

weiternden Gefäßgebiete vom Zentralnervensystem die Blutdrucksenkung unterblieb, was bei einer rein peripheren Wirkung natürlich nicht der Fall sein könnte.

Immerhin könnte noch der zweite Einwand erhoben werden, die erzielte Blutdrucksenkung nach Drehen sei nicht Folge der Vestibularis-erregung, sondern einer Reizung anderer sensibler Nerven, welche diesen Reflex auslösen. Wenn auch dieser Einwand schon durch die Tatsache unwahrscheinlich schien, daß wir bei einem albinotischen Kaninchen, das auf kalorischen Reiz und auf Drehung einen Nystagmus vermissen ließ, also anscheinend eine Unerregbarkeit des Vestibularapparates aufwies, auch die Depression des Blutdruckes nach Drehung vermißten, so schienen doch Drehversuche nach doppelseitiger Labyrinthaus-schaltung nötig.

Zu diesem Zwecke schien die von *de Kleijn*<sup>1)</sup> und anderen geübte Ausschaltung durch Injektion einer Cocainlösung am geeignetsten. Wir fanden nämlich bei Versuchen, in welchen wir den Nerv. octavus im Porus acusticus freilegten, daß schon die mechanische Reizung dieses Nerven durch Druck zur Erzeugung einer Blutdrucksenkung genügt, so daß nach Totalexstirpation beider Labyrinth infolge der damit verbundenen Aufmeißelung der Wände des Porus acusticus internus und Durchschneidung des Octavusstammes bei der Drehung des Tieres ein mechanischer Reiz an diesem Nerven gesetzt werden kann, welcher neben dem Liquorabfluß das Versuchsergebnis störend beeinflusst. Auch die doppelseitige intrakranielle Durchschneidung des 8. Hirnnerven schien für diesen Versuch nicht geeignet; denn mit dieser Durchschneidung wird ja durch die unvermeidliche gleichzeitige Durchtrennung der Art. auditiva interna eine Blutung gesetzt, die schon bei einseitiger Durchschneidung recht unangenehm werden kann, bei doppelseitiger Durchschneidung und nachfolgender Rotation des Tieres aber ein brauchbares Resultat in Frage stellt.

Aus diesen Gründen wurde die doppelseitige Labyrinthaus-schaltung durch Einspritzung einer 20 proz. Cocainlösung in das Labyrinth gewählt. Daß die geringen Mengen Cocain, die ins Labyrinth injiziert werden, nicht zur Resorption gelangen, hat schon *de Kleijn* gezeigt.

Wir modifizierten die von *de Kleijn* angegebene Methodik nur insofern, als wir nicht den Zugang zur Bulla ossea vom Hals her wählten, sondern die Freilegung der medialen Wand des Mittelohres nach Abtragung des äußeren Gehörganges und Aufmeißelung der Schläfenbeinschuppe nach der oben beschriebenen Methode vorzogen, weil auf diese Weise ein besserer Überblick auf die Außenwand des Labyrinths zu gewinnen war, als nach Aufmeißelung der in der Tiefe des Halses freigelegten Bulla.

Das Eintreten der Cocainwirkung wurde aus dem Ausbleiben des Nystagmus nach Drehen und kalorischer Reizung erschlossen. Auch die

<sup>1)</sup> *de Kleijn*, Arch. f. d. ges. Physiol. **145**, 549. 1912.

Blutdrucksenkung auf kalorische Reizung blieb nun aus. Bei galvanischer Reizung war eine Wirkung auf den Blutdruck bei Anlegen der Kathode an den äußeren Bogengang erst bei 20—25 Milliamp. zu erzielen (Wirkung auf den Stamm des Nerv. VIII?). Mit dem Eintreten dieser Cocainwirkung konnte nun bei Drehen der Tiere in zwei Versuchen ein Verschwinden der vorher deutlich nachweisbaren Blutdrucksenkung nachgewiesen werden. In zwei Fällen ließ sich wenigstens eine deutliche Abschwächung dieser Wirkung erzielen. In weiteren Fällen war sogar zu beobachten, daß eine schon an normalen Tieren manchmal im Beginne der Drehung zu beobachtende geringe Drucksteigerung mit der Labyrinthlähmung immer mehr zunahm (Abb. 10). Diese letztere Erfahrung könnte dafür sprechen, daß der geschilderte depressorische Effekt vielleicht normalerweise blutdrucksteigernden Reflexen super-



Abb. 10. Cocainausschaltung beider Labyrinthe. Leichte Blutdrucksteigerung nach 2 Rechtsdrehungen (bei  $\psi$ ). Kein Nystagmus.

poniert ist, die durch Erregung anderer sensibler Nerven bei der Drehung bedingt werden. In dieser Richtung könnte vielleicht auch, wenn überhaupt eine teleologische Betrachtungsweise in der Biologie statthaft ist, der Sinn der beobachteten Vestibulariswirkung gesucht werden: ähnlich

wie der Nerv. depressor vagi Druckschwankungen, die durch Steigerung des Aortendruckes bedingt werden, paralysieren soll, könnte daran gedacht werden, daß der N. vestibularis Drucksteigerungen, die durch Erregung anderer sensibler Nerven, etwa bei jähen Kopfbewegungen ausgelöst werden, auszugleichen habe.

Doch diese Vorstellung soll vorderhand höchstens als Arbeitshypothese geäußert werden, da erst analysiert werden muß, wieso die nach Vestibularisausschaltung manchmal beobachtete Drucksteigerung zustande kommt, bevor ein Zusammenhang dieser Wirkung mit der des Vestibularapparates auf den Blutdruck genauer erörtert werden kann.

In dieser Arbeit soll nur noch auseinandergesetzt werden, auf welchen efferenten Bahnen die nach kalorischer und galvanischer Reizung des Labyrinthes, sowie auch Drehung erzielte Blutdrucksenkung zustande kommt. Haben wir es mit einer Herz- oder einer Gefäßwirkung zu tun? Eine Hemmung der Herznerven durch Erregung der Vaguszentren läßt sich ausschließen, da nach doppelseitiger Vagusdurchschneidung sowohl der Effekt des kalorischen, als auch jener des Drehreizes bestehen blieb. Was die Beteiligung des Gefäßsystems anlangt, so scheint eine Erweiterung der Kopfgefäße von keiner oder höchstens untergeordneter Bedeutung zu sein, da auch doppelseitige Durchschneidung des Hals-

sympathicus den Reflex fast unverändert bestehen bleiben ließ (Abb. 11). Durchschneidung des Rückenmarkes ober dem Abgang der Nn. splanchnici am Übergang des Cervicalmarks in das Thorakalmark läßt dagegen die Blutdrucksenkung fast völlig verschwinden (Abb. 12)<sup>1)</sup>. Nur in einigen Versuchen wurde eine geringe, noch erhaltene

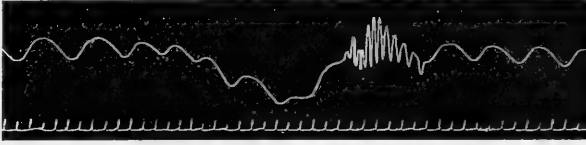


Abb. 11. Doppelseitige Durchschneidung des Vagus und Halssympathicus verhindert nicht die depressorische Wirkung der Drehung.

Depression beobachtet. Es scheint also, daß der depressorische Vestibularisreflex ganz ähnlich wie die Wirkung des N. depressor vagi durch eine Erweiterung der Bauchgefäße zustande kommt. Wie wir aber vom letztgenannten Nerven wissen, daß seine Wirkung wohl vorwiegend, aber nicht ausschließlich durch eine Erweiterung der Eingeweidegefäße bewirkt wird, indem auch nach doppelseitiger Splanchni-



Abb. 12. Durchschneidung des Rückenmarks zwischen Cervical- und Thorakalmark. Die vorher durch Drehung bewirkte Depression ist nicht mehr zu erzielen, man bemerkt nur die den einzelnen Drehungen entsprechenden Schwankungen des Manometers.

cusdurchschneidung die Blutdrucksenkung nach Depressorreizung zu beobachten ist, wenn der Blutdruck (beispielsweise durch Infusion von Kochsalzlösung) in der Höhe gehalten wird [*Porter und Beyer*<sup>2)</sup>], scheint auch der Vestibularisgefäßreflex nicht ausschließlich über die Splanchnici zu verlaufen. Wenn wir nämlich durch vorheriges Abbinden der Aorta abdominalis, knapp nach ihrem Durchtritt durch das Zwerchfell, der Vena cava inferior und der Vena portae ein Abfließen des Blutes aus dem übrigen Körper in die Bauchgefäße bei der nachfolgenden Splanchnicidurchschneidung verhinderten, also höchstens durch die Vv. hepaticae Blut rückläufig in die erweiterten Lebergefäße einfließen konnte und

<sup>1)</sup> Diese Durchschneidung wurde zweizeitig ausgeführt, indem die beiden Rückenmarkshälften an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchtrennt wurden. Dadurch ließ sich ein zu jähes Absinken des Blutdrucks infolge der Durchschneidung verhüten.

<sup>2)</sup> *Porter u. Beyer, Americ. Journ. of Physiol.* 4. 283. 1901.

auf diese Weise trotz Splanchnicidurchschneidung der Druck auf der alten Höhe erhalten war, konnten wir auch nach beiderseitiger Splanchnicidurchschneidung die Blutdrucksenkung deutlich beobachten. Es dürfte also eine Erweiterung der Muskelgefäße neben der Splanchnicuswirkung beim Zustandekommen der Blutdrucksenkung mitbeteiligt sein, wie wir ja ähnliches auch durch plethysmographische Untersuchungen von *Bayliß*<sup>1)</sup> vom N. depressor kennen.

Welche Bedeutung die hier beschriebene Blutdrucksenkung für die Klinik hat, inwiefern eine im Rahmen dieser Blutdrucksenkung zu erwartende Hirnanämie für das Zustandekommen des Schwindels in Betracht zu ziehen ist, das werden weitere Untersuchungen zu zeigen haben; ebenso ist die Frage der zentralen Bahnen des beschriebenen Reflexes, der Mitbeteiligung des hypothetischen Vasomotorenzentrums noch offen. Hierüber sind Versuche im Gange, über die weiterhin zu berichten sein wird.

#### *Zusammenfassung.*

1. Kalorische und galvanische Reizung des Labyrinths führt bei Kaninchen zu Senkung des Blutdruckes, ein Effekt, der ziemlich rasch nach Beginn des Reizes einsetzt und erst allmählich wieder zurückgeht. Die gleiche Wirkung läßt sich auch bei mechanischer Reizung des im Porus acusticus internus freigelegten Nerv. VIII beobachten.

2. Durch Drehen der Versuchstiere ließ sich ebenfalls eine Senkung erzielen, die schon während des Drehens oder erst mit dem Aufhören desselben einsetzt, weiterhin manchmal einer nachträglichen leichten Blutdrucksteigerung Platz machen kann. Diese Depression tritt schon bei Anwendung von minimalen Reizen, ja schon nach einer einzigen Drehung auf.

3. Nach einseitiger Acusticusdurchschneidung ruft kalorische Reizung der operierten Seite keine Depression mehr hervor (galvanischer Reiz nach dieser Operation wurde nicht geprüft); nach Cocainauschaltung des Labyrinths war ein Effekt der galvanischen Reizung erst bei 20—25 Milliamp. (vielleicht durch Reizung des VIII. Stammes selbst) zu erzielen.

Nach doppelseitiger Labyrinthauschaltung durch Cocainjektion konnte teils Rückgang resp. Aufhebung der Blutdrucksenkung, teils Verstärkung einer manchmal schon normalerweise zu beobachtenden kurzdauernden initialen Blutdrucksteigerung konstatiert werden. Diese Beobachtung spricht vielleicht dafür, daß die geschilderte depressorische Wirkung bei Reizung des Vestibularapparates pressorischen Effekten, die durch Reizung anderer Nerven bei Drehen der Versuchstiere ausgelöst werden, superponiert ist.

<sup>1)</sup> *Bayliß*, Journ. of physiol. **14**. 303. 1913.



4. Die geschilderte Blutdrucksenkung bleibt nach Vagus- und Hals-sympathicus-Durchschneidung bestehen, sie verschwindet fast ganz nach Durchschneidung des Rückenmarks ober dem Abgang der Nn. splanchnici; wenn man nach der Splanchnici-Durchschneidung den Blutdruck auf der alten Höhe erhält, kann man aber durch Vestibularisreizung noch eine deutliche Depression erzielen, was dafür spricht, daß ähnlich wie bei der Reizung des N. depressor neben der Splanchnicuswirkung noch andere Gefäßgebiete am Zustandekommen der Depression beteiligt sind.

---

(Aus dem physiologischen Institut Freiburg i. Br.)

## Untersuchungen über Muskelhärte.

I. Mitteilung.

### Eine allgemein anwendbare Methode zur physiologischen Härtebestimmung.

Von

Ernst Mangold.

(Ausgeführt mit Unterstützung der Freiburger Wissenschaftlichen Gesellschaft).

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Mai 1922.)

In der Festschrift für *Zwaardemaker* habe ich<sup>1)</sup> kurz über ein neues Verfahren berichtet, das ich in dem Bestreben ausgearbeitet habe, eine für physiologische und klinische Zwecke der Härtemessung an Muskeln und andern Organen möglichst allgemein brauchbare Methode zu schaffen. Dort habe ich auch die einschlägige Literatur bereits ausführlich berücksichtigt, ebenso schon darauf hingewiesen, daß meine Methode, die wie die von *Noyons*<sup>2)</sup> angegebene als eine Gewichts-Sklerometrie bezeichnet werden kann, trotz theoretischer Bedenken hinsichtlich der elastischen Nachwirkungen sich praktisch so gestalten läßt, daß sie durchaus brauchbare Ergebnisse für eine quantitative Verfolgung von Veränderungen der Muskelhärte, gemessen an der Eindrückbarkeit, liefert. Dies soll im folgenden näher erwiesen werden.

Zunächst ist eine

#### *Beschreibung der neuen sklerometrischen Methode*

zu geben.

Die für isolierte wie am Körper belassene Warm- und Kaltblütermuskeln und auch für die Untersuchung am lebenden Menschen ausgearbeitete Methode erfordert die folgenden einfachen Vorrichtungen (s. Abb. 1).

Den für alle diese Objekte unentbehrlichen und einheitlichen Hauptbestandteil bildet ein an einem Stativ befestigter, an einer wagerechten Achse drehbarer, zweiarmiger Hebel (*H*). Der längere Arm dieses aus einem runden, 2 mm dicken Messingstabe bestehenden Hebels ist einschließlich seiner auf die Länge von 60 mm aus dünnem Hartgummi geschnittenen Spitze 240 mm lang. In 40 mm von der Achse entfernt trägt er einen 40 mm langen, 1,5 mm dicken Messingstab, in ge-

<sup>1)</sup> *Mangold*, Arch. Néerland. de Physiol. 1922.

<sup>2)</sup> *Noyons* und *v. Uexküll*, Zeitschr. f. Biol. 56, 139. 1911.

lenkiger Verbindung, so daß dieser in der Längsrichtung des Hebels drehbar beweglich ist, seitlich dagegen nicht ausweichen kann. An dem kleinen Messingstab ist eine runde Pelotte aus dem gleichen Metalle mit ebener Fläche von 5 mm Durchmesser angeschraubt, die mit anderen Scheiben verschiedener Größe ausgewechselt werden kann. Weiter befindet sich an dem langen Hebelarme noch ein kurzes, auf ihm verschiebliches Röhrchen mit einem Häkchen daran, so daß der Hebel in jeder beliebigen Entfernung von der Achse nacheinander mit verschiedenen angehängten Gewichten belastet werden kann, die in einem Satze von 2, 5, 10, 20, 50, 100 g die Vorrichtung ergänzen. Ferner trägt noch der kurze Hebelarm ein mit einem übergeschobenen Metallzylinder verschiebliches Laufgewicht zum horizontalen

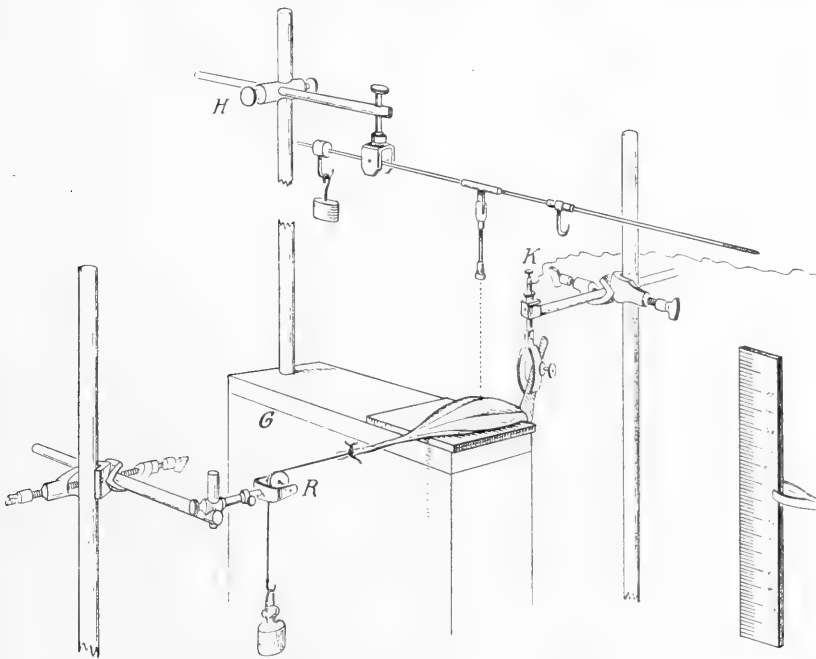


Abb. 1. Vorrichtung zur Sklerometrie.

Ausbalanzieren des Hebels, und endlich wird hinter dessen Spitze eine Millimeter-Skala angebracht. Die Hebelspitze macht dann die vertikalen Bewegungen der Pelotte entsprechend den angegebenen Massen unter 6facher Vergrößerung mit.

Während diese Anordnung bereits alles wesentliche für die *Messung der Muskelhärte am lebenden Menschen* enthält, dessen zu untersuchender Muskel, z. B. Biceps brachii, in geeigneter, später zu beschreibender Weise unter die Pelotte gebracht wird, werden für die *Versuche am isolierten Muskel* weitere, aus der Abb. 1 ersichtliche Vorrichtungen erforderlich. Als Unterlage für den Muskel, z. B. Triceps surae von Kaninchen oder Meerschweinchen, Gastrocnemius bzw. Semimembranosus-Gracilis vom Frosche, dient zweckmäßig eine Glasplatte, die auf ein schmales aber stabiles Holzgestell (G) gelegt ist, an dem für diese Messungen auch unmittelbar die Hebelvorrichtung angebracht wird (s. Abb. 1). Auf der einen Seite wird dann der Muskel mittelst des mit ihm im Zusammenhang belassenen Knochenstückes (Femur bzw. Tibia) an einer Klemme befestigt, die zugleich für

Reizungszwecke als die eine Elektrode dienen kann (*K*). Auf der anderen wird er, falls er belastet oder Messungen bei verschiedener Spannung vorgenommen werden sollen, an seiner Sehne durch ein Häkchen oder Fadenschlinge mit einem horizontal zu einer Rolle (*R*) führenden starken Faden verbunden, an dem verschiedene Gewichte aufgehängt werden können.

Auch für *Messungen am in situ verbleibenden Muskel* läßt sich die Vorrichtung ohne Schwierigkeit verwenden. Soll z. B. der am Körper belassene Wadenmuskel eines Kaninchens untersucht werden, so wird das ganze abgehäutete Tier in einer breiten Stativklemme fixiert, der Unterschenkel mit Wade nach oben auf das Holzgestell aufgelegt und die Pelotte dann auf die Muskeloberfläche gebracht. Endlich läßt sich in gleicher Weise auch am lebenden Tiere ein freigelegter Muskel auf seine Härte untersuchen.

Um nun die Härte eines Muskels nach dem Grade seiner Eindrückbarkeit zu bestimmen, wird der Hebel in horizontal ausbalanzierter Lage am Stativ so eingestellt, daß die Pelotte gerade eben mit ganzer Fläche ohne Druck dem Muskel aufliegt. Sodann wird an dem z. B. auf 80 mm Entfernung von der Achse festgestellten Häkchen ein Gewicht, z. B. 2 oder 5 g, angehängt, und das Einsinken der Pelotte in 6facher Vergrößerung an der Hebelspitze vor der Millimeter-Einteilung abgelesen. Das sofort wieder abgenommene Gewicht wird hierauf nach Kontrolle der Nullstellung der Hebelspitze durch das nächste ersetzt, dann wieder abgelesen usf.

Die erhaltenen Zahlen werden tabellarisch protokolliert und gegebenenfalls mit denjenigen zusammengestellt, die nach solchen Zustandsänderungen des Muskels gewonnen werden, deren Einfluß auf die Härte untersucht werden soll.

Als Beispiel seien in Tabelle I die bei einem Versuche erhaltenen Werte für die Eindrückbarkeit wiedergegeben.

Tabelle I.

Härtemessung am isolierten Muskel nach 1<sup>h</sup>, 7<sup>1/2</sup><sup>h</sup>, 24<sup>h</sup> post mortem (Kaninchen 12. linker Triceps surae. Hebelbelastung in 80 mm Entfernung von der Achse. Ovale Pelotte 5 : 8 mm).

Hebelbelastung g	Hebelausschläge in mm		
	1 <sup>h</sup> p. m.	7 <sup>1/2</sup> <sup>h</sup> p. m.	24 <sup>h</sup> p. m.
2	12	4	1
5	26	11	2,5
10	35	19	5
20		26	9
50			20

Das Zahlenbild ergibt sofort viel geringere Hebelausschläge, d. h. eine weitaus geringere Eindrückbarkeit nach 7<sup>1/2</sup> Stunden und eine noch viel geringere nach 24 Stunden als am frischen Muskel. Der Unterschied ist durch die *Härtezunahme infolge der Totenstarre* bedingt.

Das Ergebnis kann auch in Kurvenform veranschaulicht werden, indem die gemessenen Zahlen in ein Koordinatensystem eingetragen werden, auf dessen Abszisse die g-Werte der Hebelbelastung, auf dessen Ordinate die mm-Werte der Hebelausschläge stehen (s. Abb. 2).

Die *Hebelbelastung* wird bei den einzelnen Messungen im allgemeinen nur soweit gesteigert, daß die Hebelausschläge bis höchstens etwa 30 mm gehen. Ein solcher

Ausschlag der Hebelspitze bedeutet bei der sechsfachen Vergrößerung schon ein Einsinken der Pelotte auf der Muskeoberfläche um 5 mm. Da dies bei einem etwa 13 mm dicken Muskel wie dem Triceps surae des Kaninchens schon eine beträchtliche Deformation bedeutet, die zwar stets von ganz kurzer Dauer ist, aber doch besonders durch die Wiederholung vielleicht einen Einfluß haben könnte (s. weiter unten), so erscheint es geboten, die Hebelbelastung durch geeignete Wahl der Gewichte und der Entfernung von der Achse niedrig zu halten, was auch für die Beurteilung der Härte vollkommen genügt. Je härter ein Muskel, je geringer daher der Hebelausschlag bei der Anfangsbelastung, um so höher kann man auch mit den Gewichten gehen, da dann Ausschläge von 20—30 mm erst bei viel höheren Belastungen erreicht werden.

Um von den absoluten Werten der gefundenen Zahlen unabhängig zu werden, die naturgemäß bei verschiedenartigen Muskeln und unter verschiedenen Bedingungen verschieden sind und sich auch auf verschiedenen Anfangswerten aufbauen, und um zu quantitativ vergleichbaren Werten für die Härte verschiedener Muskeln oder desselben Muskels in verschiedenen Zuständen zu gelangen, kann man in ähnlicher Weise, wie es schon Noyons tat, die Berechnung der prozentischen Veränderungen der Eindrückbarkeit vornehmen. Die Anfangswerte werden jeweils = 100 gesetzt und nun berechnet, um wieviel Prozent die Eindrückbarkeit nach der auf ihre Wirkung zu untersuchenden Zustandsänderung abgenommen hat.

Aus der Tabelle 1 ergibt sich z. B. für die bei 2 g Belastung gemessenen Werte 12, 4, 1 ohne weiteres, daß die Eindrückbarkeit nach  $7\frac{1}{2}$  Stunden auf den dritten, nach 24 Stunden auf den zwölften Teil des Anfangswertes, also auf 33,3 bzw. 8,3% gesunken ist. Oder, wie man auch sagen kann, sie ist um  $\frac{2}{3}$  bzw.  $\frac{11}{12}$  oder um 66,6 bzw. 91,6% gesunken. Da nun die Eindrückbarkeit hier als Maßstab für das, was man als die Härte bezeichnet<sup>1)</sup>, bestimmt wird und diese Härte mit

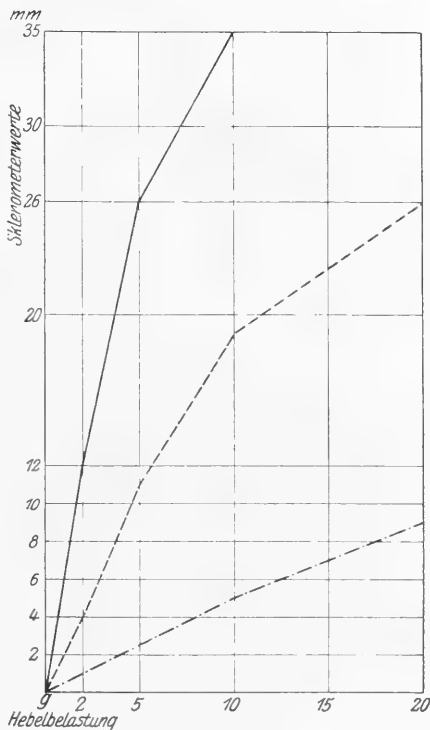


Abb. 2. Spontane Härtezunahme (Abnahme der Eindrückbarkeit) durch Totenstarre. Versuch der Tabelle I. Obere Kurve 1 Stunde post mortem. Mittlere Kurve  $7\frac{1}{2}$  Stunden post mortem. Untere Kurve 24 Stunden post mortem.

<sup>1)</sup> Siehe Mangold, l. c.

dem Sinken der Eindrückbarkeit steigt, so daß schließlich der kleinsten gemessenen Eindrückbarkeit die größte Härte entspricht, so könnte man mit entsprechenden Vorbehalten in dem hier herangezogenen Beispiel auch sagen: die Härte des Muskels ist nach  $7\frac{1}{2}$  Stunden um das 3fache, nach 24 Stunden um das 12fache gestiegen. Um indessen bei einer exakten Ausdrucksweise zu bleiben, wird die Veränderung der Muskelhärte zweckmäßig nur durch die prozentische Veränderung der Eindrückbarkeit gegenüber dem Anfangswerte derselben wiedergegeben.

So läßt sich in jedem Versuche auf Grund der Messungsergebnisse einzeln für die verschiedenen Muskelbelastungen berechnen, um wieviel Prozent des Anfangswertes sich die Eindrückbarkeit verändert hat. Als Beispiel ist dies für den Versuch der Tabelle I in der Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

Abnahme der Eindrückbarkeit in Prozent der Anfangswerte. (Kaninchen 12. Versuch der Tabelle I.)

Hebelbelastung g	% Abnahme	
	$7\frac{1}{2}$ p. m.	24 <sup>h</sup> p. m.
2	66,6	91,6
5	57,7	90,4
10	55,8	85,8

#### Hebelbelastung und Spannung.

Aus dieser Tabelle geht zugleich hervor, daß die prozentische Abnahme der Eindrückbarkeit unter dem Einfluß der *größeren Hebelbelastung* geringer wird. Die Methode gestattet daher die Vergleichung dieser Werte bei verschiedenen Muskeln, oder bei demselben Muskel in verschiedenen Zuständen, immer nur bei gleicher Belastung des Hebels.

Das gleiche gilt für den isolierten Muskel auch von derjenigen Belastung, die an dem mit seinem Sehnenende verbundenen und über die Rolle R (s. Abb. 1) geführten Faden gehängt wird und die ihm eine bestimmte Spannung erteilt. Wie sich aus umfangreichen Versuchsreihen ergibt und noch besonders ausgeführt werden soll, sinkt mit Erhöhung der Spannung die Eindrückbarkeit, so daß bei jeder Spannung andere Anfangswerte gemessen werden.

Für diesen *Einfluß der Spannung* mögen die Tabellen III und IV als Beispiel dienen, die beide einen Versuch am gleichen Muskelindividuum wiedergeben und die zugleich die sehr beträchtliche Härtezunahme unter einem weiteren, nämlich dem *Einflusse der Wärmerstarre*, vor Augen führen; auch diese Einflüsse können nach den gemessenen Werten wie die der Totenstarre (s. Abb. 2) in Kurvenform dargestellt werden.

Tabelle III.

Einfluß der Spannung auf die Eindrückbarkeit.  
(Kaninchen 5. Triceps surae, frisch isoliert)

Hebelbelastung g	Hebelausschläge in mm bei Spannung mit			
	50 g	500 g	1000 g	50 g
5	14	10	6	4,5
10	24	13	8	8
20	34	18	13	13
50	43	28	22	23

Tabelle IV.

Derselbe Muskel in Wärme-  
starre.

Hebelbelastung g	Hebelausschläge in mm bei Spannung mit		
	50 g	500 g	1000 g
5	14	10	6
10	24	13	8
20	34	18	13
50	43	28	22

Auch kann diese Abnahme der Eindrückbarkeit, wie die mit steigender Spannung, in Prozenten des Anfangswertes, hier also der Werte bei der geringsten Spannung, berechnet werden. So zeigt z. B. die Tabelle IV, daß die Eindrückbarkeit des wärmestarren Muskels bei einer Hebelbelastung von 10 g durch Erhöhung der Spannung von 50 auf 500 g, von 8 auf 4 mm, d. h. um 50%, und bei einer Spannungserhöhung von 50 auf 1000 g von 8 auf 2,5 mm, also um 69% des Anfangswertes zurückgeht. Für die verschiedenen Hebelbelastungen ist dies nach den Werten der Tabelle IV in Tabelle V berechnet.

Tabelle V.

Abnahme der Eindrückbarkeit mit erhöhter Spannung in % der Anfangswerte.  
(Versuch der Tabelle IV.)

Hebelbelastung g	% Abnahme	
	von 50 auf 500 g	von 50 auf 1000 g
5	45	88
10	50	69
20	46	58
50	32	57

Auch hier zeigt sich wieder, daß die prozentische Abnahme der Eindrückbarkeit mit steigender Hebelbelastung geringer wird.

Nach den hier in einzelnen Beispielen charakterisierten Ergebnissen fragt es sich nun, *bei welcher Hebelbelastung*, und für isolierte Muskeln auch *bei welcher Spannung* die Messungen der Eindrückbarkeit am besten ausgeführt werden, um die brauchbarsten Werte für die Vergleichung der Härte verschiedener Muskeln oder desselben Muskels in verschiedenen Zuständen zu erhalten. Auf diese Frage ergibt sich eine Antwort aus den tabellarischen Zusammenstellungen und Durchschnittsberechnungen der langen Reihen von Messungen, die ich an 20 Wadenmuskeln von Kaninchen in ihrem frischen Zustande und in verschiedenen Stadien der Wärme- und Totenstarre ohne Spannung und mit solcher durch 50, 500, 1000 und 1500 g, zugleich bei wechselnder Hebelbelastung mit 2, 5, 10, 20, 30, 50, 100 g zur praktischen Ausarbeitung der Methode durchgeführt habe.

Für die *günstigste Hebelbelastung* zeigte sich dabei, daß man für die prozentische Veränderung der Eindrückbarkeit fast ausnahmslos zu den gleichen Durchschnittswerten gelangt, wenn man die Messungen

nur mit 10 oder 20 g Belastung ausführt, als bei Erweiterung der Versuchsreihen durch Messung auch bei 5, 50, 100 g. Die bei den höheren und geringsten Belastungen gewonnenen Werte gleichen sich also wieder auf die bei 10 und 20 g erhaltenen Durchschnittswerte aus.

Eine zu niedere Hebelbelastung ist ohnehin nicht günstig, da sie zu so niederen Ausschlägen führt, daß besonders bei den höheren Spannungen, die die Werte noch verringern, eine Berechnung in Prozenten der Anfangswerte mißlich ist. Eine zu hohe aber führt zu so starken Deformationen des Muskels durch die einsinkende Pelotte, daß hierin ein zunächst nicht übersehbarer schädigender Einfluß gesehen werden könnte. Stets aber empfiehlt es sich, die Messung zur erhöhten Sicherheit des Ergebnisses nicht nur mit einer, sondern mit zwei verschiedenen Hebelbelastungen, also mit 10 und 20 g auszuführen.

Für die *günstigste Spannung* des isolierten Muskels, sofern es sich nicht um Untersuchung des Einflusses verschiedener Spannungen selbst auf die Muskelhärte, sondern um die der Veränderungen der Eindrückbarkeit unter verschiedenen anderen Bedingungen handelt, zeigt die Berechnung aus den gesamten Versuchsreihen, daß die Durchführung der Messungen allein bei einer Spannung mit 500 g das Gleiche leistet, wie bei 3 verschiedenen Spannungen durch Belastung mit 50, 500 und 1000 g, und fast ausnahmslos zu den gleichen Gesamtdurchschnittswerten führt. Eine zu hohe Spannung hat hier auch wieder den Nachteil, daß sie sehr kleine absolute Werte bedingt, eine mittlere den Vorteil einer geringen elastischen Nachwirkung, wie sie bei fehlender oder zu niedriger Muskelspannung die Genauigkeit der Messungen beeinträchtigen kann.

#### *Die elastische Nachwirkung*

spielt, wie ich schon anderorts<sup>1)</sup> unter Hinweis auf die hierzu von *Gildemeister* und *Dittler* gemachten Bemerkungen ausführte, für die Messungen der Eindrückbarkeit durch die hier angegebene Methode der statischen Sklerometrie eine Rolle sowohl *beim Einsinken der Pelotte auf der Muskeloberfläche* nach dem Anhängen der Hebelbelastung, wie auch bei dem Ausgleich der Deformation des Muskels nach dem Abnehmen des Gewichtes. Beides kommt bei hoher Spannung des Muskels kaum in Betracht, da hier die Pelotte sofort um einen definitiven Wert einsinkt und sich der Hebel nach Abnehmen des Gewichtes sofort wieder auf die Nullstellung zurück erhebt. Bei geringer Muskelspannung dagegen folgt einem ersten schnellen ein weiteres langsames Einsinken der Pelotte und man muß sich für einen Zeitpunkt zur Ablesung des Hebelausschlages entscheiden. Hier erweist sich nun

<sup>1)</sup> *Mangold*, Festschr. f. Zwaardemaker, Arch. Néerl. de Physiol. 1922.



als zweckmäßig und unschwer durchführbar, die Ablesung in dem Augenblicke vorzunehmen, wo das erste rasche Einsinken der Pelotte zu Ende ist und wonach nun noch ein verlangsamtes Weitersinken erfolgt, ein Augenblick, der bei Beobachtung der Hebelspitze vor der mm-Skala nach einiger Übung leicht zu erfassen ist. Es hat dies zugleich den Vorteil, daß die Deformation des Muskels bei den einzelnen Hebelbelastungen auf ein geringes Maß, und da das Gewicht sofort nach der Ablesung wieder abgenommen wird, auch auf eine kürzere Zeit beschränkt bleibt. Die Kontrolle der abgelesenen Werte durch die graphische Registrierung des Absinkens der Hebelspitze zeigte eine Übereinstimmung der Zahlen.

Die empirische Prüfung meiner Methode mit einer in die Tausende gehenden Zahl von Einzelmessungen in den verschiedensten Versuchen ergibt gegenüber den theoretischen Bedenken hinsichtlich der elastischen Nachwirkung, daß diese für eine durchaus brauchbare Anwendung des Verfahrens keineswegs ein Hindernis bildet, wenn sie auch seiner Genauigkeit besonders für Messungen bei geringer Härte des Objekts und geringer Muskelspannung eine gewisse, nicht zu leugnende Grenze setzt.

Der Grad dieser Ungenauigkeit läßt sich gut beurteilen aus *Versuchen mit wiederholter Messung am gleichen Muskel*, dessen Zustand sich inzwischen nicht geändert hat. Wenn man z. B. an einem frisch in extreme Wärmestarre versetzten Muskel täglich wieder bei zwei verschiedenen Spannungen die Eindrückbarkeit bestimmt und dabei die in Tabelle VI zusammengestellten Werte erhält, so wird man ohne weiteres sagen dürfen, daß sich die Härte dieses wärmestarrten Muskels in 3 Tagen nicht mehr verändert hat. Man wird aber aus diesen Zahlenbildern zugleich ersehen, daß bei unserm Verfahren für die abgelesenen Hebelausschläge mit einzelnen Abweichungen von 1—2 mm zu rechnen ist und sich gelegentlich ein einzelner Wert (Tab. VI. 22) durch eine bedeutendere Abweichung als fehlerhaft erkennen läßt.

Tabelle VI.

Mehrtägige Härtebestimmung am wärmestarrten Muskel. (Kaninchen 14. Triceps surae. Hebelbelastung in 80 mm von der Achse, runde Pelotte 5 mm.)

Hebelbelastung g	Hebelausschläge in mm			
	3 <sup>h</sup> p. m.	24 <sup>h</sup> p. m.	48 <sup>h</sup> p. m.	72 <sup>h</sup> p. m.
A. Bei Spannung mit 50 g				
5	4	3	3	3
10	7	6	5	6
20	11	9	10	10
50	18	17	17	22
B. Bei Spannung mit 500 g				
5	2	2,5	3	2
10	4	4	5	3
20	7	6	8	6
50	14	13	16	14

In den gleichen Grenzen hält sich der Fehler der Methode auch bei den absolut größeren Werten, die sich am frischen Muskel ergeben. Dies geht aus dem in Tabelle VII wiedergegebenen Versuche hervor, der bei 4 verschiedenen Spannungen mit 8maligem Wechsel derselben innerhalb von 10 Minuten, zugleich mit 4 verschiedenen Hebelbelastungen und 36 Einzelmessungen durchgeführt wurde.

Tabelle VII.

Härtmessung mit unmittelbar aufeinanderfolgenden Wiederholungen. (Kaninchen 13. Triceps surae, isoliert.)

Hebelbelastung g	mm Hebelausschlag bei Spannung mit								
	50	500	1000	50	0	1000	500	50	1000 g
2	10	4,5	3,5	10	17	3	5	10	4
5	23	10	9	23	32	8	10	21	9,5
10		20	17			13	17		13
20		29	22			20	27		20

Man wird nicht sagen können, daß dieser Fehler die Brauchbarkeit der Methode in Frage stellt. Da er indessen immerhin auf die Berechnung des Grades der Härteveränderungen in Prozenten des Anfangswertes nicht ohne Einfluß ist, erscheint es ratsam, allgemeinere Schlüsse möglichst auf Durchschnittswerte aus größeren Versuchsreihen zu begründen, wie dies ja auch sonst eine allgemein geltende Forderung ist.

In dem gleichen Umfange von 1–2 mm, selten mehr, halten sich auch die *Unterschiede*, die man zwischen zwei *symmetrischen Muskeln desselben Tieres* bei den einander entsprechenden Einzelmessungen erhält. Hierfür mögen die in Tabelle VIII wiedergegebenen Messungsprotokolle als Beispiel dienen.

Tabelle VIII.

Vergleichung der bei zwei verschiedenen symmetrischen Muskeln desselben Tieres erhaltenen Werte für die Eindrückbarkeit (Kaninchen 4. rechter und linker Triceps surae, isoliert. Werte des einen ohne, des anderen mit Klammer.)

Hebelbelastung g	Hebelausschläge in mm bei Spannung mit		
	50 g	500 g	1000 g
5	12 (12)	8 (8)	7 (7)
10	21 (19)	12 (11)	10 (10)
20	30 (30)	18 (17)	15 (14,5)
50	41 (44)	30 (28)	26 (23,5)
100		42 (40)	38 (36)

Auf die Anwendung der als günstig erprobten Hebelbelastungen (10 und 20 g) und Spannungen (500 g), bei denen die elastische Nachwirkung möglichst wenig störend wirkt, wurde bereits hingewiesen. Dies gilt zugleich für diejenige *elastische Nachwirkung*, die sich am nicht oder nur wenig gespannten Muskel jeweils *nach dem Abnehmen der Hebelbelastung* darin äußert, daß die Hebelspitze nicht sofort wieder auf die Nullstellung zurückgeht. Letzteres muß aber vor einer etwa gleich anzuschließenden weiteren Messung jedesmal abgewartet werden,

es läßt sich übrigens durch Lüften der Pelotte von der Muskeloberfläche beschleunigen.

Unter Bezugnahme auf den in Tabelle VII wiedergegebenen Versuch erscheint hier ein Hinweis darauf am Platze, daß bei der vorstehend dargestellten Anwendung meiner Methode ein wesentlicher

*Einfluß der Messungen auf die Muskelhärte*

und damit wieder auf die früher oder später folgenden weiteren Messungen nicht in Betracht kommt. Tabelle VII zeigt, daß selbst sehr häufige und schnell aufeinander folgende Wiederholungen der Messung und ein ebensolcher Wechsel der hierbei angewendeten Spannungen die Eindrückbarkeit des Muskels nicht irgendwie nachhaltig verändern.

Daß die Dehnungen hierbei keinen Einfluß haben, war zu erwarten, da der Muskel nach Dehnung auf glatter horizontaler Unterlage nach der Entlastung mit elastischer Vollkommenheit in die Anfangslänge zurückkehrt<sup>1)</sup>; offenbar gilt dies ebenso von der Druckelastizität.

*Eichung des Sklerometers.*

Um die bei den Messungen ausgeübten Drucke physikalisch näher zu bestimmen, kann man bei meinem Sklerometer eine empirische Eichung der Hebelvorrichtung vornehmen. Hierfür wird ein Glasrohr, in welches die runde Pelotte mit 5 mm Durchmesser gerade hineinpaßt, zu einem zwischenkligen Hg-Manometer umgebogen, dessen kürzerer Schenkel bis fast vollkommen zum Rande mit Hg gefüllt wird. Sodann wird die Pelotte bei horizontal ausbalanciertem Hebel auf die Hg-Oberfläche aufgesetzt und nun festgestellt, um wieviele mm die Hg-Säule bei Belastung des Hebels herabgedrückt wird. Hierbei werden die gleichen Gewichte in der gleichen Entfernung von der Hebelachse angebracht wie bei den Messungen am Muskel. Für die Entfernung von 80 mm ergeben sich die in der Tabelle IX zusammengestellten Werte für das Absinken der Pelotte mit dem Hg-Meniscus.

*Tabelle IX.*

Eichung des Sklerometers (Pelotte 5 mm. Hebelbelastung in 80 mm von der Achse.)

Hebelbelastung	Hg mm	Druckwert mm Hg
2	5	10
5	12	24
10	23	46
20	32	64

Den einfachen Werten entsprechen die doppelten Druckwerte in mm Hg und bei der 6fachen Vergrößerung der Ausschläge bis zur Hebelspitze die 6fachen mm-Werte der Hebelausschläge an der mm-Skala.

<sup>1)</sup> Siehe *Tripel*, *Physikalische Anatomie*. Wiesbaden 1902, S. 104.

Hiernach läßt sich der Druck der Pelotte, der bei den verschiedenen Hebelbelastungen auf dem Muskel ruht, in mm-Hg ausdrücken, und man könnte in den Tabellen der Messungsergebnisse an Stelle oder neben den Hebelbelastungen auch den diesen jeweils entsprechenden Druck in mm-Hg angeben. Führt man die Eichung noch bei andern Pelotten und bei andern etwa für die Messungen in Betracht kommenden Entfernungen der Hebelbelastung von der Achse oder für andere ähnliche Apparate durch, so ergibt sich ein vergleichbares Maß für die verschiedenen Messungen.

Auch in den kurvenmäßigen Darstellungen der Ergebnisse (s. z. B. Abb. 2) lassen sich entsprechend an Stelle der in g angegebenen Hebelbelastungen auch die Druckwerte in mm-Hg auf der Abszisse eintragen.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, die Härte des Muskels oder sonstigen Organs mit der eines leicht herstellbaren *Testobjekts* zu vergleichen, wie schon *Noyons* die Härte von Organen auf Gelatineplatten bezog. Als solches lassen sich zweckmäßig hierfür *Gelatinezylinder* von verschiedenem Prozentgehalt und bestimmten Dimensionen herstellen, an denen die Eindrückbarkeit in ganz der gleichen Weise gemessen und in Tabellen oder Kurven dargestellt wird wie am Muskel. Durch Vergleichung der am Muskel und am Gelatineblock gemessenen absoluten Werte lassen sich dann übereinstimmende Zahlen finden und hiernach die Härte bzw. Eindrückbarkeit eines Muskels nach der der Gelatine ausdrücken.

Tabelle X.

Gelatinezylinder als Testobjekte. Durchmesser 30 mm. Höhe 10 mm. Pelotte 5 mm. Entfernung der Hebelbelastung 80 mm von der Achse. Sklerometerwerte in mm.

Hebelbelastung	% -Gehalt		
	5%	10%	20%
2	4,5	3	1,5
5	10	6	2,5
10	18	11,5	4
20		18,5	7

Die Tabelle X gibt die Eindrückbarkeit von solchen Gelatine-Testplatten wieder, die durch Eingießen von vorher auf 50° erwärmten Gelatinelösungen von 5, 10 und 20% Gelatinegehalt in zylindrische Gläschen von 30 mm Durchmesser mit einer Dicke von 10 mm hergestellt werden. Bei diesen Dimensionen stimmen die Sklerometerwerte von Gelatineplatten innerhalb solcher Gläschen mit denjenigen freier gleichgroßer Platten überein. Daher eignen sich die angegebenen Maße für solche leicht herzustellende Testobjekte aus Gelatine, die zur Gewinnung von Normal- und Vergleichswerten für die Härtmessung von Organen empfohlen werden können. Die Herstellung derartiger

Gelatine-Normalplatten erfolgt in ähnlicher Weise, wie es *Gildemeister*<sup>1)</sup> für seine Zwecke ausführte, durch Auflösung der abgewogenen Menge käuflicher weißer Gelatine in der dem gewünschten Prozentgehalte entsprechenden Menge aq. dest. unter Erwärmung und Umrühren, sodann Umgießen in die Glasgefäße von den angegebenen Dimensionen.

Vergleicht man nun mit diesen in Tabelle X zusammengestellten Sklerometerwerten für derartige Gelatine-Normalplatten z. B. die in der Tabelle VI wiedergegebenen Werte für einen wärmestarrten Muskel, jeweils für die gleichen Hebelbelastungen, so läßt sich sagen, daß dieser bei Spannung mit 50 g etwa ebenso eindrückbar ist, wie eine 10 proz. Gelatine-Normalplatte und bei Spannung mit 500 g ebenso hart wie eine Gelatine-Normalplatte von 20%. Ebenso würde ein Vergleich für die Sklerometerwerte bei Totenstarre (s. Tabelle I) mit den Gelatine-normalwerten der Tabelle X für den Kaninchen-Triceps nach 7 $\frac{1}{2}$  Stunden post mortem die gleiche Härte wie bei einer 5proz., nach 24 Stunden post mortem bereits wie bei 20 proz. Gelatine ergeben.

In der gleichen Weise wie in den der Tabelle X zugrunde liegenden Versuchen kann man auch für *verschiedene Pelottengrößen* einzeln eine sklerometrische Messung mit verschiedenprozentiger Gelatine vornehmen und sich danach Eichungstabellen herstellen. Dabei werden die Sklerometerwerte um so kleiner, je größere Druckplatten verwendet werden.

#### *Einfluß der Unterlage und Dicke des Objekts.*

Derartige Gelatineblöcke eignen sich auch weiter für die systematische Ausarbeitung unserer Methode hinsichtlich gewisser, bei den Messungen in Betracht kommender Einflüsse, so besonders desjenigen der Dicke des Muskels oder sonstigen Messungsobjekts wie auch der Unterlage. Hierüber habe ich auch noch anderweitige Versuchsreihen angestellt, die den Untersuchungsbedingungen am Muskel genau entsprachen. Die Frage nach dem etwaigen Einfluß der Dicke wie auch der Unterlage des auf seine Härte zu untersuchenden Organs, wie sie besonders für die Messungen am lebenden Menschen, und ganz allgemein am in situ verbleibenden Muskel, von Bedeutung ist, läßt sich ja auch am Muskel selbst prüfen. Ich habe zu diesem Zwecke die Messungen am isolierten Triceps surae des Kaninchens mehrfach mit veränderter Art und Dicke der Unterlage ausgeführt, während derselbe für die sonstigen systematischen Untersuchungen stets auf einer Glasplatte lag (s. Abb. 1). Wurde zwischen diese und den Triceps eine 20–35 mm dicke Lage aus Kaninchenmuskulatur gebracht, hierdurch also sozusagen die Dicke des Muskels selbst verändert, so ergab sich gegen die Erwartung kein wesentlicher Unterschied der Eindrückbarkeit.

<sup>1)</sup> *Gildemeister*, Zeitschr. f. Biol. **63**, 175. 1914.

Dies geht z. B. aus dem in der Tabelle XI wiedergegebenen Versuche hervor, in dem sich die Abweichungen zwischen den, jeweils bei gleicher Hebelbelastung und Spannung am gleichen Muskel bei geringer und erheblich größerer, auf das 3fache erhöhter Dicke gewonnenen Zahlen nicht als größer erwiesen wie sonst bei Wiederholung der Messungen unter völlig unveränderten Bedingungen.

Tabelle XI.

Einfluß der Muskeldicke auf die Härtemessung. (Kaninchen Triceps surae, isoliert.)

Hebelbelastung g	Muskel auf Glasplatte				Muskel auf 35 mm Muskelschicht			
	Spannung mit:				Spannung mit:			
	0	50	500	1000 g	0	50	500	1000 g
2	21	16	7	5	22	15	8	6
5	28	30	14	10	32	27	13	10
10			22	16			21	16
20				24				23

An einem spontan erstarrten, isolierten Muskel wurden die bei den verschiedenen Spannungen gemessenen Werte für die Eindrückbarkeit durch eine Unterlage von 45 mm Muskelschicht bei den höheren Belastungen teilweise etwas größer.

Jedenfalls übt aber hiernach bei der Dicke eines Kaninchen-Triceps, d. h. bei 12—13 mm, die Dicke des Muskels und die Konsistenz der Unterlage keinen wesentlichen Einfluß auf die an seiner Oberfläche gewonnene Eindrückbarkeit aus. Offenbar drückt sich dabei in den sklerometrischen Werten vorwiegend und im wesentlichen die Eindrückbarkeit der oberen Schichten des Muskels aus.

Für den Wadenmuskel des Kaninchens ersetzt daher auch eine Glasplatte ziemlich vollkommen die natürliche Unterlage; dies geht aus der Übereinstimmung der Werte bei frisch oder nach der Entwicklung der Totenstarre zuerst in situ und gleich darauf nach Isolierung gemessenen Muskeln hervor; dabei stimmen, wie die in Tabelle XII wiedergegebenen Beispiele zeigen, die Werte in situ mit denen vom isolierten Muskel überein, solange dieser ohne oder nur bei einer Spannung mit 50 g gemessen wird.

Tabelle XII.

Härtemessung am in situ belassenen und am isolierten Muskel.

Hebel- belastung g	Kaninchen 12, link. Triceps		Kaninchen 12, r. Triceps		Kaninchen 11, Triceps	
	in situ	isoliert	in situ	isoliert	in situ	isoliert
		1 <sup>h</sup> p. m. Spannung 0 g 50		24 <sup>h</sup> p. m. Spannung 0 g		7 <sup>h</sup> p. m. Spannung 0 50 g
2	11	12 9	1,5	1	4	4 5
5	22	26 21/22	3,5	3	10	11 11
10		35 34	6	5	20	22 18
20			10/11	10/11	35	35 28

Für diese wie alle wiederholten Härtemessungen an demselben wie an verschiedenen Muskeln, empfiehlt es sich, um möglichst gleiche Bedingungen und dadurch gut vergleichbare Werte für die Eindrückbarkeit zu erhalten, die *Pelotte jedesmal der gleichen Stelle der Muskeleoberfläche aufzusetzen*. Als solche eignet sich in der Regel die Mitte des Muskelbauches, da hier auch bei Verkürzung und Verdickung des Muskels durch Reizkontraktion oder Starre das Druckplättchen immer noch horizontal mit ganzer Fläche aufliegen kann, während dann die Teile der Muskeleoberfläche seitlich der Höhe des Muskelbauches hierfür zu abschüssig werden. Die Vergleichung der Werte bei Aufsetzen der Pelotte auf verschiedene Stellen eines Muskels ergibt auch am frischen Muskel Unterschiede, die zweckmäßig sonst zu vermeiden sind und durch Markieren des einmal gewählten Punktes ja auch leicht vermieden werden können. Diese Unterschiede sind nach den Enden des Muskels hin wohl zum Teil auch durch die hier immer beträchtlicher werdende Dickenabnahme, z. T. jedenfalls aber durch die nach der Sehne zu veränderten Bindegewebsverhältnisse des Muskels bedingt.

In weiteren Mitteilungen soll über die mit dem vorstehend geschilderten sklerometrischen Verfahren gewonnenen Ergebnisse der Härtemessung an tierischen Muskeln in verschiedenen Zuständen der Starre und Reizkontraktion wie am Menschen berichtet werden, worüber ich kurz zusammenfassend bereits an anderer Stelle gesprochen habe<sup>1)</sup>.

Als Beispiel für die

#### *Sklerometrie am Menschen,*

die mit meiner Apparatur in sehr einfacher Weise auszuführen ist und lediglich ein Stativ mit der Hebelvorrichtung (s. Abb. 1 H.) und eines mit der Millimeterskala erfordert, die sich unschwer auch *am*, oder auf geeigneter fester Unterlage selbst *im* Krankenbette aufstellen lassen, seien in Tabelle XIII einige Durchschnittswerte für den Extensor carpi radialis longus und den Biceps angegeben. Sie zeigen den Unterschied der Eindrückbarkeit bei Ruhe und starker Willkürkontraktion, wie er für den Biceps noch durch die Kurven der Abb. 3 ersichtlich gemacht ist.

Auch für die

#### *physiologische Härtebestimmung an andern Organen*

ist das Verfahren ohne weiteres anwendbar.

<sup>1)</sup> *Mangold*, Freiburger Med. Gesellsch. 9. V. 1922.

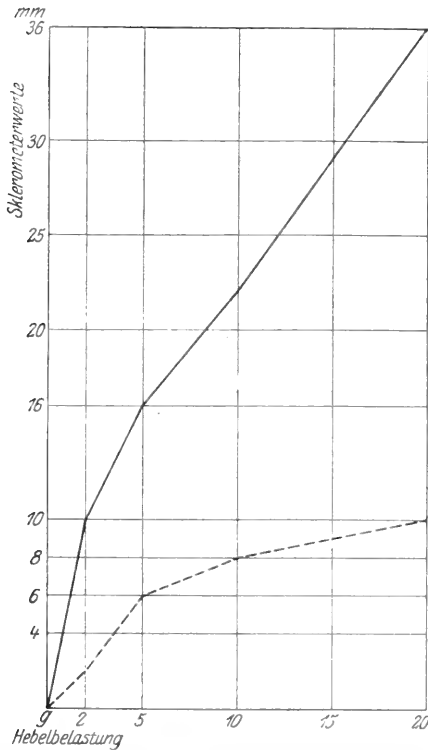


Abb. 3. Härtekurve des menschlichen Biceps (Sklerometerwerte für die Eindrückbarkeit). Obere Kurve: bei Ruhe. Untere Kurve: bei willkürlicher Kontraktion.

Tabelle XIII.

Messung der Muskelhärte beim Menschen. Pelotte 5 mm. Hebelbelastung in 100 mm von der Achse.

Hebelbelastung g	Sklerometerwerte in mm		Biceps l.	
	Ext. carpi r. l.	Ext. carpi l. l.	Ruhe	Kontraktion
2	7	3	10	2
5	11	5	16	6
10	19	7	22	8
20	32	15	36	10

### Zusammenfassung.

Es wird eine neue Methode für die physiologische Härtemessung angegeben, die auf dem Prinzip der statischen Sklerometrie beruht und mit der als Maßstab der physiologischen Härte die Eindrückbarkeit der Organe zahlenmäßig bestimmt wird. Das zunächst besonders an isolierten Kaninchenmuskeln ausgearbeitete Verfahren läßt sich ebenso auch am in situ befindlichen Tiermuskel und in sehr einfacher Weise auch am Menschen für die Messung der Muskelhärte und ihre Vergleichung in verschiedenen Zuständen ausüben, ferner auch für die Härtebestimmung an andern Organen. Die Methode besitzt eine allgemeine Verwendbarkeit zur Härtemessung für physiologische, pathologische und klinische Zwecke.



(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Freiburg i. B.)

## Untersuchungen über Muskelhärte.

### II. Mitteilung.

#### Die Härtemessung in Totenstarre und Wärmestarre.

Von

**Ernst Mangold.**

(Ausgeführt mit Unterstützung der Freiburger Wissenschaftlichen Gesellschaft.)

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 18. Mai 1922.)

Die Erforschung der Veränderung des Muskels durch die spontane Totenstarre und die Wärmestarre hat sich neben der chemischen Untersuchung bis jetzt fast vollkommen auf die Registrierung der Verkürzung beschränkt. Im übrigen wird immer nur ohne weitere experimentelle Prüfung davon gesprochen, daß der Muskel ein getrübtetes Aussehen und eine festere, steife, weniger elastische Konsistenz annimmt. So sehr die Veränderungen der Zug- und Druckelastizität bei diesen Zuständen, zu deren Bezeichnung als Starre sie ja den Anlaß gaben, im Vordergrund des Bildes stehen, so haben sie doch bisher keine physiologische Bearbeitung erfahren. Nur für die Wärmestarre bestehen einige Angaben über die verringerte Dehnbarkeit. Die Härteveränderungen sind aber allgemein fast völlig unbeachtet geblieben.

Durch meine neue, für die Messung der Härte des Muskels und anderer Organe allgemein verwendbare Methode der physiologischen Sklerometrie<sup>1)</sup>, bei der als Maßstab für die Härte die Eindrückbarkeit gemessen wird, sind nun auch die während jener Starrezustände auftretenden Härteveränderungen quantitativ meßbar und vergleichbar geworden und können in ihrer Entwicklung stufenweise leicht verfolgt werden.

Über derartige Messungen der Muskelhärte im Verlaufe der Toten- und Wärmestarre will ich im folgenden berichten. Dabei sollen zunächst die Härteveränderungen während der Totenstarre und ihrer Lösung,

<sup>1)</sup> *Mangold*, Unters. über die Muskelhärte. I. Mitteilung. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **196**, 1922; Arch. Néerland. de Physiol. Festschr. f. Zwaardemaker, 1922; Freiburger Med. Gesellsch. 9. V. 1922.

danach die stufenweisen Veränderungen durch die Wärmestarre behandelt, und nach dem quantitativen Vergleich der Härtegrade des Muskels in beiden Zuständen die Beziehungen beider zueinander erörtert werden, wie es bis jetzt vorwiegend nur auf Grund der chemischen Untersuchung der Muskeleiweißkörper geschah.

Die ausgedehnten Versuchsreihen wurden von mir an Muskeln von Kaninchen, zum Vergleich auch an solchen von Katzen und Meer-schweinchen, durchgeführt, und zwar wurde als besonders geeignet stets der isolierte oder je nachdem auch der in situ freigelegte Triceps surae beider Hinterbeine verwendet. An diesem wurden die Härtemessungen in der in voriger Mitteilung angegebenen Weise vorgenommen und zu den verschiedensten Zeiten nach dem Tode wiederholt, auch die Wärmestarre zu verschiedenen Zeiten herbeigeführt. Inzwischen wurden sie in feuchter Kammer bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Die Herstellung des Triceps surae als physiologisches Muskelpräparat erfolgt in der Weise, daß sofort nach der Tötung des Tieres durch Nackenschlag der Schenkel abgehäutet, die Achillessehne umschnitten und der Muskel nach Abpräparieren der ihn bedeckenden oberflächlichen Muskelschicht und Durchschneiden des Ursprunges des kleinen dritten Kopfes, bis über das Knie isoliert wird. Durch dieses Gelenk hindurch wird dann der Unterschenkel mit der Knochenzange abgetrennt, während der Muskel in dem von der übrigen Muskulatur befreiten und, um eine Splitterung zu vermeiden, durchgesägten Femur eine Handhabe zum Festschrauben in der Klemme des Stativs<sup>1)</sup> erhält.

### 1. *Änderungen der Muskelhärte im Verlaufe der Totenstarre.*

Für die Totenstarre ist durch die quantitative Bestimmung der Muskelhärte ein neues meßbares Kriterium gewonnen. Die mit meinem Sklerometer am totenstarrten Muskel erhaltenen Werte für die Eindrückbarkeit zeigen, wie schon das in der ersten Mitteilung gegebene Beispiel lehrte (s. S. 202 u. 203, Tabelle I u. Abb. 2), gegenüber dem frischen Muskel sehr große Unterschiede. Diese Härtemessung kann daher auch bei den Muskeln, deren vorhergehende Schicksale nicht bekannt sind, zur Erkennung des totenstarrten Zustandes benutzt werden. Besonders von forensisch-pathologischem Interesse würde es sein, diese Härtemessung für die Bestimmung der Todeszeit einer Leiche zu verwenden. Nach meinen Erfahrungen an Kaninchen muß es zweifellos auch bei der menschlichen Leiche möglich sein, den Zeitpunkt seit dem Tode auf diese Weise in vielen Fällen mit großer Annäherung zu bestimmen. Findet sich der Muskel nach der sklerometrischen Messung noch weich, nimmt dann aber seine Härte von Stunde zu Stunde zu, so befand er sich sicher in den ersten Stunden post mortem. Nimmt die Härte bei wiederholter Prüfung nicht mehr oder nur noch langsam und wenig

<sup>1)</sup> Siehe *Mangold*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **196**, 1922, S. 201, Abb. 1.

zu, so stammte er oder die Leiche aus einer späteren Zeit post mortem; aus einer noch späteren, wenn die Härte sich anfangs beträchtlich erweist, dann aber gleichbleibt oder wieder abnimmt, wodurch die Lösung der Totenstarre erkennbar wird.

Der hier bereits skizzierte Verlauf der Härteänderung während der Totenstarre sei zunächst an dem Zahlenbilde der Tabelle I erläutert.

Tabelle I.

Änderungen der Härte im Verlauf der Totenstarre. Sklerometerwerte (Hebelausschläge) in mm. Hebelbelastung in 80 mm von der Achse. Pelotte 5 : 8 mm. Muskel ohne Spannung. (Kaninchen 12).

Hebelbelastung g	Stunden post mortem									
	in situ						isoliert			
	1	3	5	7 $\frac{1}{2}$	9	24	24	33	48	72
A. rechter Triceps surae, in situ bis 24 <sup>h</sup> h. p. m.; danach isoliert.										
2	12	10	8	6	4	1,5	1	2	1	2
5	23	25	18	13	10	3,5	3	4	3	4
10	38	40	26	22	18	6	5	9	6	6,5
20			38	34	26	10,5	10,5	18	12	12
50							23	27	24	22
B. Linker Triceps surae, frisch isoliert										
2	12	12	9	4		1		1,5	1	2
5	26	25	19	11	8	2,5		4	4	4
10	35	32	25	19	15	5		9	7	7
20				26	21	9		16	15	15
50						20		25	25	26
C. Linker Triceps surae, wie bei B, doch Spannung mit 500 g										
2	3	4	3	2	1,5	1		1,5	1	1
5	8	9	6	5	3	2		2,5	2	2
10	13,5	15	10	10	5	4		5	4	4
20	23	25	17	16	9	9		9	9	9
50	44	44	30	29	19	19		18	20	17

Dieselbe zeigt die mit meinem Sklerometer gemessenen Werte für die Eindrückbarkeit zweier symmetrischer Muskeln desselben Kaninchens zu verschiedenen Zeitpunkten während der 1. bis 72. Stunde post mortem. Aus dem gesamten Zahlenmaterial dieses Versuches, bei dem, um zugleich dabei die Methode auszuarbeiten und durchzuprüfen, die einzelnen Messungen jedesmal mit verschiedenen Hebelbelastungen (2, 5, 10, 20, 50 100 g), am isolierten Muskel auch bei verschiedenen Spannungen (mit 0,50, 500, 1000 g) durchgeführt wurden, sind hier in der Tabelle unter A und B nur die ohne besondere Spannung, und unter C noch für den einen Muskel die bei Spannung mit 500 g erhaltenen Werte wiedergegeben. Die einzelnen horizontalen Zahlenreihen der Tabelle lassen alle leicht die Abnahme der Hebelausschläge und damit

die der Eindrückbarkeit der Muskeln erkennen. Dieselbe beginnt aber erst nach 5<sup>h</sup> p. m. deutlich zu werden, während nach 3<sup>h</sup> gegenüber den Werten der ersten Stunde noch keine Veränderung erkennbar ist, da die Zahlen hier noch nicht mehr als 1—2 mm von den ersten abweichen und diese Abweichungen, wie wir in der vorigen Mitteilung hervorhoben, innerhalb der Fehlergrenzen dieser Methode liegen.

Die Tabelle zeigt weiter die Übereinstimmung sowohl der absoluten Werte für die Eindrückbarkeit, wie demnach auch ihrer Veränderungen während der Totenstarre, zwischen den beiden symmetrischen Muskeln (A u. B), obwohl der eine sofort nach dem Tode des Tieres heraus-

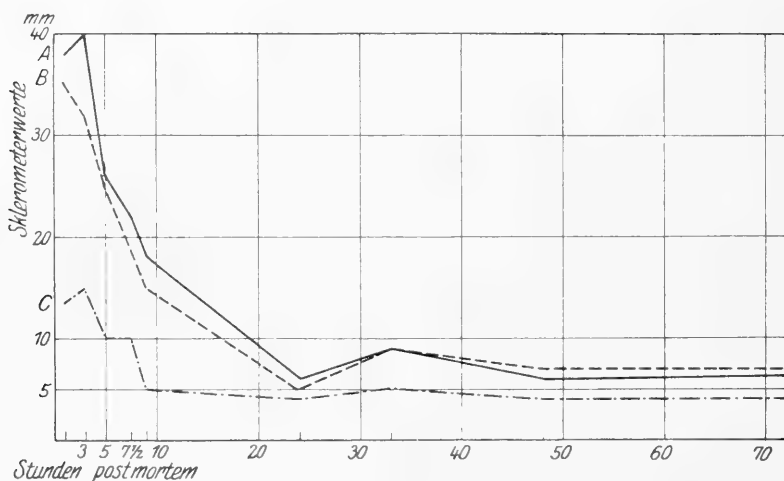


Abb. 1. Zeitlicher Verlauf der Härtezunahme (Abnahme der Eindrückbarkeit) in der Totenstarre. Versuch der Tabelle I. Kurvendarstellung für die Sklerometerwerte bei Hebelbelastung 10 g. Kurve A rechter Triceps, erst in situ, nach 24 Stunden isoliert, ohne Spannungsbelastung. Kurve B linker Triceps, isoliert, ohne Spannung. Kurve C derselbe bei Spannung mit 500 g.

präpariert und daher von vornherein isoliert untersucht wurde, während die Härte des andern bis 24<sup>h</sup> p. m. in situ, weiter aber nach der darauf stattfindenden Isolierung bestimmt wurde. Besonders erweisen sich die 24<sup>h</sup> p. m., vor und nach der Isolierung, gemessenen Werte als gleich. Die Übereinstimmung beider Muskeln wird noch besser durch die Kurven der Abb. 1 veranschaulicht, in der die bei der Hebelbelastung 10 g gemessenen Werte für die Eindrückbarkeit eingetragen sind. Die gleiche Übereinstimmung ergab sich auch, wenn der eine Muskel überhaupt viel später zum ersten Male gemessen wurde.

Die sklerometrischen Messungen bei höheren Spannungen zeigen den grundsätzlich gleichen Verlauf für die Härteänderung während der Totenstarre, nur beginnen sie naturgemäß der höheren Spannung entsprechend, die die Eindrückbarkeit herabsetzt, mit kleineren Werten.

Als Beispiel hierfür ist aus diesem Versuch noch das Ergebnis bei Spannung mit 500 g in der Tabelle I wie auch in der untersten Kurve der Abb. 1 wiedergegeben.

Ausdrücklich möchte ich auch hier hervorheben, daß derartig umfangreiche und zeitraubende Messungen, wie ich sie zur gleichzeitigen Durchprüfung der Methode jedesmal angestellt habe, so daß z. B. Tabelle I nur einen Teil der in einem Versuche erhaltenen Werte umfaßt, keineswegs jedesmal für die Härtebestimmung erforderlich sind. Es genügt vielmehr bei jeder Wiederholung der Messung die Beschränkung auf eine Spannung des Muskels und 1 oder höchstens 2—3 verschiedene Hebelbelastungen. Abb. 1 zeigt, daß sich dabei schon ein gutes Bild des Verlaufes gewinnen läßt.

Für den *Beginn der Totenstarre*

ist bemerkenswert, daß nicht nur in dem hier näher erläuterten Beispiel, sondern bei allen von mir gemessenen Kaninchen-Triceps nach 3<sup>h</sup> p. m. stets noch keine Härteänderung meßbar hervortrat, obwohl an dem übrigen Tierkörper, der in feuchter Kammer aufbewahrt wurde, nach 3<sup>h</sup> bereits allenthalben an dem vermehrten Widerstand gegen Bewegung ein schwacher Beginn der Totenstarre bemerkbar war; auch nach *Bierfreund*<sup>1)</sup> beginnt, wenigstens bei den weißen Muskeln des Kaninchens, die Totenstarre nach 1—3<sup>h</sup>. In eigenen größeren Untersuchungsreihen hatte ich bei Mäusen den Beginn der Totenstarre am ganzen Körper auf durchschnittlich 2<sup>h</sup> p. m., bei Ratten auf 3<sup>h</sup> p. m., ebenso bei graphischer Registrierung des isolierten Gastrocnemius bei Ratten auf 3<sup>1/2</sup><sup>h</sup>, bei Mäusen dagegen schon nach 25' feststellen können<sup>2)</sup>. Nach diesen Angaben macht sich im Beginn der Totenstarre die meßbare Verkürzung offenbar gleichzeitig oder etwas früher geltend als die sklerometrisch meßbare Härtezunahme des Muskels, die nach 4, jedenfalls aber nach 5<sup>h</sup> p. m. beginnt und nach 7<sup>h</sup> regelmäßig bereits in beträchtlichem Maße nachweisbar ist.

Für den *Höhepunkt der Totenstarre*

ergibt sich aus dem als Beispiel (s. Tabelle I u. Abb. 1) herangezogenen, wie aus meinen übrigen Versuchen die Tatsache, daß nach 24<sup>h</sup> p. m. jedenfalls der Höhepunkt der Härtezunahme erreicht ist. Die gleich zu besprechende prozentische Berechnung der Härtezunahme wird über diese Verhältnisse weiteres ergeben. Nach 24<sup>h</sup> findet keine beträchtliche Härtezunahme mehr statt. Die Härte bleibt vielmehr danach tagelang gleich, steigt höchstens noch unbedeutend oder aber sie nimmt mit der beginnenden

*Lösung der Totenstarre*

wieder ab.

<sup>1)</sup> *Bierfreund*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **43**, 195. 1888.

<sup>2)</sup> *Mangold*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **189**, 102. 1921.

Die in der vorigen Mitteilung (S. 204, Tabelle II) erwähnte

*prozentische Berechnung der Härteänderungen*

gibt nun die Möglichkeit der *quantitativen Verfolgung dieser Veränderungen in allgemein vergleichbaren Werten*. Hiermit wird ein Maß gefunden, durch das die Grade der Starre bei verschiedenen Muskeln oder verschiedenen Starrezuständen unmittelbar vergleichbar werden, und man unabhängig wird von den dieser Berechnung zunächst zugrunde gelegten absoluten Werten der Messungen. Wird der am frischen Muskel bei einer bestimmten Spannung und Hebelbelastung mit dem Sklerometer gemessene Wert des Hebelausschlages als Anfangswert gleich 100 gesetzt, so läßt sich nach den unter gleichen Bedingungen später bestimmten Werten leicht ausrechnen, um wieviel Prozent des Anfangswertes in jedem Zeitpunkt post mortem die Eindrückbarkeit als Maßstab der Muskelhärte sich verändert hat. Dies habe ich in großen Versuchsreihen am Triceps surae des Kaninchens für den Verlauf der spontanen Totenstarre durchgeführt, wobei die Zeitpunkte von 7, 17, 18, 24, 72<sup>h</sup> p. m. mit dem gesamten Material der zu diesen Zeiten bei den verschiedenen Spannungen und Hebelbelastungen gewonnenen Einzelmessungen zugrunde gelegt wurden. An diesem wurde zunächst für die einzelnen Muskeln und Zeitpunkte die prozentische Abnahme der Eindrückbarkeit berechnet, wie es in der Tabelle II zusammengestellt ist. Um ferner zu Gesamtdurchschnittswerten zu gelangen, habe ich die sämtlichen an diesen 14 Muskeln gemessenen Zahlen verwertet, wobei aber, wie Tabelle II zeigt, nicht für deren jeden aus allen verschiedenen Zeiten Härtmessungen vorlagen, für jeden aber natürlich der zugrunde zu legende Anfangswert des frischen Zustandes.

*Tabelle II.*

Spontane Härtezunahme durch Totenstarre. (Abnahme der Eindrückbarkeit in Prozenten des Anfangswertes am frischen Muskel.)

Stunden post mortem	Kaninchenmuskel													
	4 I	4 II	5 I	6 II	7 I	8 II	9 I	9 II	10 I	10 II	11 I	12 I	12 II	14 I
7							54,8	33,2	54,5	55,5	28,5	35,6		
17—18	40	30	30		69,5	81								
24				49						75	44	68,7	72,9	82
48—49				54,8						63		68,6	72,1	71
72												67,9	72,1	56

Obwohl besonders bei den kleineren absoluten Werten, die sich bei den höheren Härtegraden und Spannungen ergaben, schon durch kleine Abweichungen die Prozentberechnung stark beeinflusst wird, dürften bei dem großen Gesamtmaterial an Einzelmessungen die hier mitzuteilenden Durchschnittswerte eine gewisse absolute Gültigkeit

für den Kaninchenmuskel besitzen und eine Orientierung über diese Verhältnisse am Warmblütermuskel gestatten.

Tabelle III.

Härtezunahme durch Totenstarre und Wärmestarre. (Abnahme der Eindrückbarkeit um % des Anfangswertes vom frischen Muskel.)

1	2	3	4
Stunden post mortem	Totenstarre Gesamtdurchschnitt	1. Wärmestarre Gesamtdurchschnitt	2. Wärmestarre Gesamtdurchschnitt
1 $\frac{1}{2}$ —3	0	<b>68,6</b>	<b>70,3</b>
7	<b>43,5</b>	—	—
17—19	<b>46,5</b>	<b>56,1</b>	<b>55,8</b>
24	<b>66,5</b>	<b>65,1</b>	—
46—49	<b>63,9</b>	—	<b>67,1</b>
72	68,2	—	—

Die auf diese Weise gewonnenen, in der zweiten Reihe der Tabelle III eingetragenen Gesamtdurchschnittswerte zeigen, ebenso wie die einzelnen Durchschnittswerte in Tabelle II, daß die Härtezunahme schon nach 7<sup>h</sup> eine beträchtliche Höhe erreicht hat; die Eindrückbarkeit ist schon um 43,5%, also auf 56,5% zurückgegangen und sinkt von da ab nur langsam weiter, so daß sie bis 24<sup>h</sup> p. m. um 66,5% abgenommen hat. Hiermit ist die absolute Höhe der Härtezunahme erreicht. 48<sup>h</sup> p. m. ist die Abnahme der Eindrückbarkeit gegenüber dem Anfangswert schon wieder geringer. Wenn sie sich dann 72<sup>h</sup> p. m. wieder gestiegen zeigt, so deutet dies, sofern sich aus dem geringen Unterschiede von 1,7% Schlüsse ziehen lassen, darauf hin, daß bei manchen Muskeln auch später als 24 bzw. 48<sup>h</sup> p. m. noch eine weitere, wenn auch sehr geringe Härtezunahme stattfindet (vgl. Tabelle II, Muskel 6II). Auf diesen Wert als Gesamtdurchschnittswert für die Eindrückbarkeit nach 72<sup>h</sup> p. m. möchte ich indessen kein größeres Gewicht legen, da ich zu diesem Zeitpunkt nur an 3 Muskeln Messungen ausgeführt habe. Wenn man hierzu den Härteverlauf bei einzelnen Muskeln vergleicht, wie er in Tabelle II (12 I, 12 II, 14 I) angegeben ist, so zeigt sich, daß ein Muskel vom 2. bis zum Beginne des 4. Tages auch bei der erreichten Härtezunahme stehen bleiben (12 I, 12 II; vgl. auch Abb. 1) oder aber in dieser Zeit mit der prozentischen Abnahme seiner Eindrückbarkeit wieder zurückgehen (14 I), d. h. wieder weicher werden kann. Dieses Ergebnis bestätigt die bisherigen Erfahrungen über den zeitlich stark wechselnden Beginn und Verlauf der *Lösung der Totenstarre*<sup>1)</sup>. Auch hinsichtlich des zeitlichen *Höhepunktes der Totenstarre* lassen sich die über die Härteänderungen festgestellten Tatsachen gut mit den Ergebnissen der Verkürzungskurve in Einklang bringen. Auch hier war der (bei Maus und Ratte) durchschnittlich auf 7—9<sup>h</sup> p. m. festzusetzende Höhepunkt der Starre noch kein absoluter, ich erhielt vielmehr

<sup>1)</sup> Vgl. *Mangold*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **189**, 102. 1921.

am isolierten Muskel noch sehr oft jenseits dieses relativen Höhepunktes einen weiteren, sehr geringen langsamen Anstieg der Starrekontraktion<sup>1)</sup>.

Aus alledem ergibt sich der Eindruck, daß bei der Totenstarre die Härteänderung wohl im allgemeinen mit der Verkürzung des Muskels gleichen Schritt hält. Dabei braucht aber keine direkte Proportionalität zu bestehen. Auch bleibt die Verkürzung nach den Registrierversuchen ja gelegentlich aus, während die sklerometrisch meßbare Härtezunahme nach meinen bisherigen Erfahrungen am Warmblütermuskel eine völlig regelmäßige postmortale Erscheinung ist. Es sei hier vorgreifend gleich bemerkt, daß bei der Wärmestarre Härtezunahme und Verkürzung weitgehend unabhängig voneinander sind.

Offenbar sind Verkürzung und Härtung des Muskels nicht als Maßstab für einander gültig. Für die Totenstarre, die bezüglich der Verkürzung ja stets eine verschiedengradige und wohl nur partielle und submaximale ist<sup>2)</sup>, ergibt sich noch die Folgerung, daß man allein nach dem Fehlen der Verkürzung nicht mehr vom Ausbleiben der Totenstarre sprechen darf, da die Starre dann doch in einer Härtezunahme zum Ausdruck gekommen sein kann. Und weiter ergibt sich die Frage, ob sie wenigstens in dieser Beziehung wohl stets eine totale und maximale ist. Nach den Unterschieden, die ich bei den verschiedenen Muskeln zwischen den Maxima ihrer prozentischen Härtezunahme fand, die sich im einzelnen auf 54,8—82% belief (s. Tabelle II), ist diese Frage zu verneinen; freilich ist hier noch damit zu rechnen, daß die wiederholte sklerometrische Messung bei einigen Muskeln den absoluten Höhepunkt der Härtung gerade verpaßt hat; in Tabelle II zeigt sich am Beispiel des Muskels 6 II, daß auch noch nach 24<sup>h</sup> weitere Härtezunahme stattfinden kann, und am Muskel 8 II, daß schon nach 17 bis 18<sup>h</sup> eine Härtezunahme erreicht sein kann, wie sie bei andern erst nach 24<sup>h</sup> p. m. (vgl. 14 I) erreicht wird.

## 2. Änderungen der Muskelhärte im Verlaufe der Wärmestarre.

Die Wärmestarre der Muskeln ist bisher vorwiegend beim Frosche mit graphischer Aufzeichnung der Verkürzung untersucht worden. Auch für den Warmblütermuskel hat man den stufenweisen Verlauf der Erstarrung bei fortschreitender Temperaturerhöhung festgestellt und mit der Gerinnung der verschiedenen Muskeleiweißkörper in Zusammenhang zu bringen versucht<sup>3)</sup>. Auch die Härteänderungen sind dabei aufgefallen; es wird aber stets ohne jede experimentelle Prüfung

<sup>1)</sup> Mangold, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **189**, 103. 1921.

<sup>2)</sup> Mangold, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **182**, 212. 1920.

<sup>3)</sup> Siehe v. Fürth, Ergeb. d. Physiol. **17**, 474. 1919; v. Frey, Nagels Handb. d. Physiol. **4**, 467. 1909.



und nur nach dem subjektiven Eindruck von dem Hartwerden gesprochen, sogar gelegentlich nach dieser oberflächlichen Beurteilung der Grad der Härte in Wärmestarre und Totenstarre verglichen<sup>1)</sup>.

Hier sei zunächst über die quantitative Messung der Härte und ihrer Zunahme durch die Wärmestarre nach den Versuchsreihen berichtet, die ich an Kaninchenmuskeln (*Triceps surae*) mit meiner sklerometrischen Methode durchgeführt habe.

Die Wärmestarre wurde an den in der angegebenen Weise isolierten Muskelpräparaten zu verschiedenen Zeitpunkten post mortem in der Weise herbeigeführt, daß der sonst in feuchter Kammer aufbewahrte Muskel vermittels des an ihm belassenen Femurstückes durch eine Stativklemme fixiert und, ohne oder mit sehr geringer Belastung am Sehnenende, frei in einem Becherglase in Ringerlösung oder chemisch reiner NaCl-Lösung aufgehängt wurde, die nun von Zimmertemperatur an, unter ständigem Umrühren mit dem Thermometer, erwärmt wurde. Dabei lassen sich leicht zwei Verkürzungsstufen und deren Beginn und Beendigung beobachten. Ich kam dabei zu nicht vollkommen gleichen Temperaturangaben wie frühere Autoren<sup>2)</sup>. Die erste Verkürzung beginnt bei meinem Verfahren am Wadenmuskelpreparat des Kaninchens bei 52° C, in annähernder Übereinstimmung mit Kühne [49—50°]<sup>3)</sup>, und ist nach langsamer, stetiger Weitererwärmung bei 56—59° C beendet; die zweite beginnt dann bei 62° C und erreicht bei 68—69° C ihren Höhepunkt. Ich möchte diese beiden, bei 59 bzw. 69° C abgeschlossenen Verkürzungszustände als *die erste und zweite Wärmestarre* bezeichnen.

Die *Verkürzung* dieses, in frischem Zustande je nach der Größe des Kaninchens 70—90 mm langen Muskels (gemessen wurde nur bis zum Ende der Muskelsubstanz oberhalb des Sehnenendes) beträgt nach den vor und nach der 1. Wärmestarre vorgenommenen Messungen an 13 Muskeln, die zu verschiedenen Zeitpunkten post mortem in die erste Wärmestarre versetzt wurden, im Gesamtdurchschnitt 13% der Anfangslänge, um die der Muskel sich dann verkürzt hat; ziehe ich nur diejenigen Muskeln in Rechnung, die gleich frisch vor der Möglichkeit einer Verkürzung durch Totenstarre in erste Wärmestarre versetzt wurden, so ergeben sich 20% als Durchschnitt. In der zweiten Wärmestarre fanden sich die Muskeln dagegen im Durchschnitt um 42% der Anfangslänge (vor der 1. Wärmestarre) verkürzt.

Die *Verdickung* des frischen, meist 13 mm dicken Muskels geht, nach Messung der Höhe des Muskelbauches bei Lagerung des Muskels

<sup>1)</sup> Brodie und Richardson, Philos. Transact. roy. Acad. of Sc. **191**, 143. B. 1899.

<sup>2)</sup> Brodie und Richardson, Philos. Transact. **191**, 137. B. 1899 (Mäusegastrocnemius); Vincent und Lewis, Journ. of Physiol. **26**, 454. 1901 (Kaninchen); siehe auch v. Fürth, Ergebn. d. Physiol. **17**, 475. 1909.

<sup>3)</sup> Kühne, Myolog. Unters. Leipzig 1860.

auf der Glasplatte, bei der 1. Wärmestarre meist nur bis auf 14—15 mm, bei der 2. Wärmestarre auf 16—17 mm.

Das *Aussehen* des Muskels wird durch die 1. Wärmestarre kaum verändert, er behält mit nur geringer Trübung seine frische Farbe, während er in der 2. Wärmestarre stark weißlich getrübt, wie gekocht, aussieht.

Stellt man nun diesen verschiedenartigen Unterschieden, die der wärmestarre Muskel im Vergleich zum frischen Zustande aufweist, und die bei der 1. Wärmestarre noch sehr gering, bei der 2. Wärmestarre dagegen sehr beträchtlich sind, diejenigen Veränderungen gegenüber, die der sklerometrisch quantitativ gemessene Härtezustand des Muskels im Vergleiche zum frischen Zustande durch die Wärmestarre erfährt, so ergibt sich ein überraschendes Verhalten.

Wie bei den Versuchen über die Totenstarre habe ich auch die Härtemessung an den wärmestarren Muskeln, für die bereits in der vorigen Mitteilung ein Beispiel auszugsweise wiedergegeben wurde (s. S. 207, Tabelle VI), jedesmal mit verschiedener Hebelbelastung meines Apparates (5, 10, 20, 50 g) und bei verschiedener Spannung der Muskeln (mit 50, 500, 1000 g) durchgeführt. Die außerordentlich zahlreichen dadurch erhaltenen Einzelwerte wurden tabellarisch protokolliert; durch Vergleich jedes Einzelwertes mit dem unter genau gleichen Bedingungen vorher festgestellten Sklerometerwerte des frischen Muskels wurde dann seine prozentische Veränderung gegenüber dem Frischwerte, der gleich 100 gesetzt wurde, berechnet.

Die Gesamtdurchschnittswerte für die prozentische Abnahme der Eindrückbarkeit sind für die 1. und 2. Wärmestarre neben denen für die Totenstarre in der Tabelle III angegeben.

Wenn man nun zunächst nur diejenigen Muskeln berücksichtigt, bei denen sowohl die 1. wie die 2. Wärmestarre sogleich nach der Herstellung des Präparates oder doch noch innerhalb der ersten 3 Stunden post mortem herbeigeführt wurde, also zu einer Zeit, wo, wie wir oben sahen, die Totenstarre noch keine Härteänderung verursacht, so ergibt sich die auffallende Tatsache, daß die durch die 1. Wärmestarre bedingte Härtezunahme durch die 2. Wärmestarre nicht mehr gesteigert wird. Die Eindrückbarkeit sinkt durch die 1. Wärmestarre im Gesamtdurchschnitt bereits um 68,6%, in der 2. Wärmestarre um 70,3% des Anfangswertes vom frischen Muskel. Der Differenz von 1,7% möchte ich keine Bedeutung beilegen, da sie gewiß innerhalb der Fehlergrenzen der prozentischen Berechnung liegt.

*Hiernach erreicht, im Gegensatz zur Verkürzung, Verdickung und Trübung des Muskels, die Härtezunahme schon in der 1. Wärmestarre den gleichen Wert wie in der zweiten.*

Wie für den frischen, innerhalb der ersten 3<sup>h</sup> p. m. in 1. und 2. Wärmestarre versetzten Muskel, gilt dies auch für solche, die zu anderer späterer

Zeit in Wärmestarre gebracht wurden. Eine Reihe von Muskeln wurde erst 17—18<sup>h</sup> p. m. in die 1. und anschließend dann in die 2. Wärmestarre gebracht. Ihre Eindrückbarkeit hatte nach der 1. Wärmestarre um 56,1%, nach der 2. um 55,8% des im frischen Zustande gemessenen Wertes abgenommen (s. Tabelle III).

Bei einem Muskel, der nach 22<sup>h</sup> p. m. in 1. Wärmestarre versetzt wurde, betrug die Abnahme 65,1%. Bei vier andern, bei denen die 1. Wärmestarre nach 7 bzw. 8, 24 und 48<sup>h</sup>, die 2. Wärmestarre nach 46—49<sup>h</sup> hervorgerufen wurde, ergab sich in der letzteren eine durchschnittliche Abnahme der Eindrückbarkeit um 67,1%.

Die Härtezunahme infolge der beiden, zwischen 1 und 49<sup>h</sup> p. m. herbeigeführten Wärmestarten, schwankt demnach in dieser Versuchsreihe nur zwischen 70,3 und 55,8%.

Die absoluten Skerometerwerte, die bei der Wärmestarre erreicht werden, zeigen für die zwei symmetrischen Muskeln des gleichen Tieres jeweils eine ziemlich gute Übereinstimmung. Hierfür seien in Tabelle IV zwei Beispiele angeführt.

Tabelle IV.

A. Kaninchen 13. r. u. l. Triceps surae in der 1. Wärmestarre 1/2 bzw. 1<sup>h</sup> p. m.  
Werte des einen der beiden Muskeln in Klammern.

Hebelbelastung g	Hebelausschläge bei Spannung mit:		
	50	500	1000 g
5	4,5 (7)	2 (1,5)	2 (1,5)
10	10 (11)	4 (3)	3 (3)
20	14 (20)	9 (6)	5,5 (5)
50	30	16 (17)	11 (13)

B. Kaninchen 10. r. u. l. Triceps in der 2. Wärmestarre 48 bzw. 49<sup>h</sup> p. m.

5	4 (3,5)	3 (3)	—
10	6,5 (6)	5 (5)	—
20	10 (10)	8 (9)	—
50	20 (21)	15 (18)	—

### 3. Die Interferenz der Wärmestarre mit der Totenstarre.

Wie die Tabelle III zeigt, bleiben die höchsten Werte, die die Härtezunahme (Abnahme der Eindrückbarkeit) in der Totenstarre erreicht, kaum hinter denjenigen in der 1. oder 2. Wärmestarre zurück. Nach beiden Zustandsänderungen reicht dieses Maximum an 70% des Anfangswertes heran. Hieraus ergibt sich schon, daß ein totenstarrer Muskel durch Erwärmung nicht mehr wesentlich härter gemacht werden kann. Die Übersicht der Versuche zeigt denn auch, wenn man den Härtezustand nach der zu verschiedenen Zeiten p. m. erfolgten Erwärmung auf 1. oder 2. Wärmestarre mit den jeweils gerade vorher gemessenen Werten vergleicht, folgendes: Die Erwärmung auf 1. Wärmestarre (59° C) bis zu 8<sup>h</sup> p. m. bewirkt ausnahmslos eine beträchtliche Härtezunahme. (8—17<sup>h</sup> p. m. liegen keine Messungen vor.) Nach 18<sup>h</sup> p. m. wird der Muskel durch Erwärmung nur wenig härter oder

bleibt meist ziemlich gleich, kann sogar schon etwas weicher werden als unmittelbar vorher. Nach 22<sup>h</sup> p. m. wurde ein Muskel noch etwas härter, nach 25<sup>h</sup> aber wurden zwei Muskeln weicher als vorher. Auch die Erwärmung auf 2. Wärmestarre (69° C) ergab 18—19 und 46<sup>h</sup> p. m. ein Gleichbleiben oder schon Weicherwerden gegen vorher, 28 und 48<sup>h</sup> p. m. dagegen in den vorliegenden Fällen eine Härtezunahme.

Die Wirkung der Erwärmung hängt also von dem bis dahin erfolgten Fortschritt der Totenstarre ab; ist dieselbe noch im Anstieg begriffen, so wirkt Erwärmung steigernd auf die Härtezunahme. Ist dieselbe schon zum Stillstand oder einer gewissen Höhe gelangt, so läßt sie diese unbeeinflußt oder wirkt bereits wieder erweichend. In einem extremen Ausnahmefalle wurde ein Muskel auf diese Weise sogar wieder ebenso weich als im frischen Zustande (s. Tabelle V).

Tabelle V.  
(Kaninchen II. Triceps I.)

Hebelbelastung g	Spannung mit:		1000-g
	50	500	
A. Frisch 20' p. m.			
5	20	7	6
10		13	10
20		22	16
B. Totenstarre 24 <sup>h</sup> p. m.			
5	6	4	3
10	10	9	6
20	16	14	10
C. 1. Wärmestarre 25 <sup>h</sup> p. m.			
5	16	9	6
10	23	15	11
20	32	24	19

Es erübrigt noch, auf einige

#### 4. Theoretische Schlußfolgerungen

einzugehen, die sich aus diesen Untersuchungen ergeben.

Zunächst kann auf Grund der sklerometrischen Ergebnisse bestätigt werden, daß ein wärmestarrer Muskel nicht mehr totenstarr werden kann. Er kann es hinsichtlich der Härtezunahme deshalb nicht, weil schon die erste Wärmestarre einen Härtegrad bedingt, der dem maximalen der Totenstarre gleichkommt; der experimentelle Beweis hierfür liegt in dem selbst dann weiteren Gleichbleiben des Härtezustandes nach einmal herbeigeführter 1. oder 2. Wärmestarre, wenn diese schon vor oder im Beginne der Totenstarre erzeugt wurde. Das in der ersten Mitteilung (s. S. 207, Tabelle VI) gegebene Beispiel zeigte diese Konstanz bis zum 4. Tage. Das Gleiche gilt auch für die durch die 2. Wärmestarre erreichte Härte. Hierdurch bestätigt sich zugleich auch für den Härtezustand, daß die Wärmestarre im Gegensatz zur Totenstarre nicht wieder in Lösung übergeht. Daß die Wärmestarre und Toten-

starre auf gleichen inneren Vorgängen im Muskel, insbesondere auf der Gerinnung der Muskeleiweißkörper beruhe, würde sich nach unsern Ergebnissen nur für die 1. Wärmestarre aufrechterhalten lassen, während für die 2. Wärmestarre entweder verschiedene innere physikalisch-chemische Vorgänge zugrunde liegen oder zum Teil verschiedene Gewebelemente beteiligt sein müssen. In diesem Sinne haben bereits *Vincent und Lewis*<sup>1)</sup>, die ebenso wie ich die (bei ihnen dritte) letzte Stufe der Wärmestarre bei den Temperaturgraden über 60° C beobachteten, derselben Temperatur, die auch die Kontraktion des Sehnen-gewebes verursacht, die Ansicht ausgesprochen, daß die Verkürzung bei 63° C ganz oder fast ganz auf einer Veränderung der bindegewebigen Elemente im Muskel beruhe. Danach wären nur bei der (oder den) *Verkürzungen* vor der 2. Wärmestarre besonders oder allein die spezifisch muskulären Elemente beteiligt; das Gleiche könnte nun auch für die *Härtezunahme* in der 1. Wärmestarre gelten. Da durch die 2. Wärmestarre keine weitere Härtung mehr bedingt wird, würde sich dann ergeben, daß die Wärmeverkürzung des bindegewebigen Anteils nicht mit Härteänderung des Muskels einhergeht.

Eine Abänderung muß die verbreitete Angabe erfahren, wonach der *totenstarre Muskel noch in Wärmestarre* überzugehen vermöge<sup>2)</sup>. Dies läßt sich nicht mehr allgemein aufrecht halten; es gilt vielmehr *nur für die Verkürzung*, die dann allerdings besonders durch die 2. Wärmestarre noch in höherem Grade herbeigeführt werden kann; nicht aber für die eigentliche, sich in der Härteänderung kundgebende Starreerscheinung. Denn wir sahen, daß der totenstarre Muskel von einem gewissen Zeitpunkt ab durch Erwärmung nicht mehr härter wird.

Ferner läßt sich *nicht mehr allgemein die Angabe vertreten, daß der wärmestarre Muskel härter oder fester sei als der totenstarre*<sup>3)</sup>. Die quantitative sklerometrische Messung ergibt jedenfalls, zunächst für den Kaninchenmuskel, daß selbst durch die 2. Wärmestarre kein höherer Härtegrad erreicht wird, als die höchsten Härtegrade bei Totenstarre es sein können. Die höheren unter den in der Tabelle III wiedergegebenen Werten liegen wohl in der Fehlergrenze; auch ist in Betracht zu ziehen, daß sich die Wärmestarre mit größerer Sicherheit erzielen läßt, während die Totenstarre ja auch schon hinsichtlich der *Verkürzung* starke Schwankungen zeigt und in dieser Beziehung kaum jemals eine maximale ist<sup>4)</sup>. Für die *Härtezunahme* scheint sie nach unserm Vergleich mit der Wärmestarre doch meist den maximalen Wert zu erreichen.

<sup>1)</sup> *Vincent und Lewis*, Journ. of Physiol. **26**, 457. 1901.

<sup>2)</sup> *Vincent und Lewis*, Journ. of Physiol. **26**, 454, 1901; vgl. *v. Fürth*, Ergebn. d. Physiol. **17**, 475. 1919.

<sup>3)</sup> *Brodie und Richardson*, Philos. Transact. **191**, 143 B. 1899; *v. Fürth*, Ergebn. d. Physiol. **17**, 475. 1919.

<sup>4)</sup> *Mangold*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **182**, 211. 1920.

*Zusammenfassung.*

Mit der in der vorigen Mitteilung angegebenen sklerometrischen Methode wurde an Kaninchenmuskeln (Triceps surae) die durch die Totenstarre und Wärmestarre bedingte Härtezunahme quantitativ verfolgt. Bei der Totenstarre beginnt die Härtezunahme erst nach 3 Stunden nach dem Tode und befindet sich nach 24<sup>h</sup> p. m. auf dem Höhepunkt. Im Gegensatz zur Verkürzung, die am isolierten Muskel zur Zeit der erwarteten Totenstarre manchmal ausbleibt, scheint die postmortale Härtezunahme regelmäßig aufzutreten. Verkürzung und Härtung sind auch bei der Wärmestarre weitgehend unabhängig voneinander. Am Triceps surae des Kaninchens läßt sich bei der Wärmestarre eine bei 52° C beginnende und bei 58° C vollendete Verkürzungsstufe und eine bei 62° C beginnende und bei 68° C zum Stillstand gelangende Verkürzungsstufe unterscheiden, die als erste und zweite Wärmestarre benannt werden. Die Verkürzung findet in der ersten Wärmestarre um 13—20%, in der 2. Wärmestarre um 42% der Anfangslänge statt; der in der 1. Wärmestarre noch kaum getrübt, frisch aussehende Muskel wird in der 2. Wärmestarre vollkommen weißlich getrübt, wie gekocht. Im Gegensatz zur Verkürzung und dem Aussehen ändert sich der in der 1. Wärmestarre erreichte Härtegrad durch die 2. Wärmestarre nicht mehr. Dies spricht für eine Verschiedenartigkeit der der 1. und 2. Wärmestarre zugrunde liegenden inneren Veränderung im Muskel oder für die Beteiligung verschiedener Gewebs-elemente. Der Zeitpunkt nach dem Tode ist für den Grad der durch die Wärmestarre bedingten Härtezunahme im Vergleich zum Anfangswerte am frischen Muskel gleichgültig; nicht aber im Vergleich zu dem gegebenenfalls vorher bereits durch spontane Totenstarre hervorgerufenen Härtezustand, da dieser durch die Erwärmung auch gleichbleiben oder herabgesetzt werden kann. Der einmal wärmestarre Muskel verändert seinen Härtezustand tagelang nicht mehr; es bestätigt sich also auch für die Härtezunahme, daß der wärmestarre Muskel nicht mehr totenstarr werden kann. Umgekehrt kann aber, hinsichtlich der Härtezunahme, im Gegensatz zur Verkürzung, auch ein totenstarrer Muskel nicht mehr in Wärmestarre versetzt werden, da die maximale Härtezunahme des Muskels durch die Totenstarre in Prozenten der am frischen Muskel gemessenen Sklerometerwerte ebenso groß ist wie diejenige durch die 1. oder 2. Wärmestarre; sie beträgt im Gesamtdurchschnitt der Versuche am Triceps surae des Kaninchens nahezu 70%. Nur während des unvollendeten Anstieges der Totenstarre wird der Härtegrad durch die Wärmestarre noch, auf jenen Wert, erhöht.

---

# Reflexe vom Mesenterium auf das Herz.

Von

W. H. v. Wyss und N. Messerli.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Zürich.)

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Mai 1922.)

Vor kurzem haben *W. R. Hess* und *W. H. v. Wyss*<sup>1)</sup> über Untersuchungen berichtet, welche sich mit der sensiblen Ausstattung der Baueingeweide befassen. Als Versuchstier hatte der Frosch gedient. Bei den erwähnten Experimenten zeigte sich, daß die mechanische Reizung des Mesenteriums darin eine Sonderstellung einnimmt gegenüber andern Reizmöglichkeiten, daß sie stets von einer Herzhemmung beantwortet wird ohne Begleiterscheinung von Seiten der Skelettmuskulatur wie bei Schmerzreizen. Die Autoren kamen deshalb zu dem Schluß, daß es sich in diesem Falle um eine besondere Afferenzqualität handle, deren physiologische Auswirkung offenbar im Bereich der Bauchhöhle selbst zu suchen ist, während der Herzeffekt lediglich als ein Übergreifen der Erregung auf das Herzvaguszentrum im Sinne einer Irradiation zu deuten ist. Die leichte Ansprechbarkeit, welche durch bestimmte Versuchsbedingungen noch eine bedeutende Steigerung erfährt, und die Möglichkeit, vom Herzen graphische Aufzeichnungen zu erhalten, prädisponieren das Herz zum Indicator für ins zentrale Nervensystem einströmende Impulse, auch aus dem Gebiet der vegetativen Organe.

Bereits bestehen in der Literatur einige auf Warmblütler sich beziehende Angaben über Herzreflexe. Solche kamen zur Beobachtung bei Aufblasen des Magens [*Mayer* und *Pribram*<sup>2)</sup>], ferner bei Hungerkontraktionen des Magens [*Carlson*<sup>3)</sup>]. Von besonderem Interesse sind die Feststellungen von *Boruttai* und *Braun*<sup>4)</sup>. Diese Autoren lehnen ausdrücklich ab, daß von den Eingeweiden sich Reflexe auf das Herz des Warmblütlers erzielen lassen. Immerhin geben sie zu, daß ihre Pleusversuche

<sup>1)</sup> *W. R. Hess* und *W. H. v. Wyss*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **194**, 195. 1922.

<sup>2)</sup> *Mayer* und *Pribram*, Sitzungsber. d. Akad. d. Wissensch. 66. Abt., 3 S. 102. 1872.

<sup>3)</sup> *Carlson*, Americ. Journ. of Physiol. **31**, 318. 1913.

<sup>4)</sup> *Boruttai* und *Braun*, Zentralbl. f. Physiol. **24**, 711. 1910.

an decerebrierten Tieren nicht absolut beweiskräftig sind infolge des schlechten Allgemeinzustandes der Tiere durch die operativen Schädigungen des Decerebrierens und des künstlich erzeugten Ileus. Die Tiere waren infolge dieser schweren Eingriffe derartig erschöpft, daß sie sich vielleicht zur Entdeckung etwa vorhandener Reflexbeziehungen nicht mehr eigneten.

### Versuche.

Meerschweinchen mittlerer Größe wurden zunächst in Äthernarkose decerebriert, und zwar wurden sowohl Großhirn wie Thalami optici vollständig entfernt. Diese Operation gestattete uns den späteren Versuch ohne Narkose vorzunehmen und doch das Bewußtwerden von Schmerzreizen auszuschalten. Damit waren die günstigsten Bedingungen für das Zustandekommen von Reflexen ohne Beeinflussung von dieser Seite gewährleistet.

Nach 4—5 Stunden kamen die Tiere zum eigentlichen Versuch. Zuerst wurde die Tracheotomie vorgenommen zum Zweck der später notwendigen künstlichen Atmung. Darauf eröffneten wir in einer Wärmekabine Brust- und Bauchhöhle. Mit der Eröffnung der Brusthöhle wurde die künstliche Atmung von einer Sauerstoffbombe aus eingeleitet unter Verwendung des *Ganterschen* Apparates. Die Sauerstoffzufuhr war derart dosiert, daß mit Sicherheit eine ausreichende Lungenventilation gewährleistet war. Die Registrierung der Herzstätigkeit erfolgte unter Verwendung eines Schleifen-Kymographions. Der *Jaquetsche* Chronograph schrieb die Zeit auf den Kurven.

Da es uns in erster Linie darauf ankam, Aufschluß über die *Möglichkeit* einer reflektorischen Beeinflussung des Herzens zu gelangen, machten wir von den früheren Beobachtungen von *Hess* und *v. Wyss* Gebrauch, daß Eingießen einer Phosphatlösung in die Bauchhöhle die Ansprechbarkeit des Vagussystems beim Frosche bedeutend erhöhte.

Ferner gestützt auf die Erfahrungen am Frosche wandten wir hier ausschließlich die mechanische Reizart an, und zwar in Form von Zug am Mesenterium.

Von den mehr als 20 Tieren, die wir operierten, verloren wir eine größere Zahl durch die Folgen des Decerebrierens, bevor wir mit Rücksicht auf das Abklingen der Schockerscheinungen und der Narkose zur Registrierung schreiten konnten. Im ganzen erzielten wir einwandfreie Kurven von 8 Tieren.

Mehrere Tiere blieben trotz der schweren operativen Eingriffe in so gutem Zustand, daß verschiedene Gruppen von Einzelversuchen ausgeführt werden konnten. Diese waren getrennt durch ein Intervall von ca. 5 Minuten. Bei andern Tieren verschlechterte sich der Zustand bald nach Eröffnung der Brusthöhle und nach Beginn der Registrierung zusehends, so daß wir uns mit Resultaten aus einer relativ kurzen Versuchszeit begnügen mußten.

An derartig operierten Tieren ist natürlich nicht mehr mit einem unbeeinflussten Herzrhythmus zu rechnen. Tatsächlich beobachteten



wir auch meistens kurz nach dem Anfassen des Herzens zur Registrierung eine Periode von Extrasystolen. Die Herzaktion wurde hernach wieder regelmäßig. Die Schlagfrequenz war aber nicht immer stetig, und endlich kam es in einer vorgerückten Phase des Versuchs in der Regel zu Herzblock. Diese Tatsachen müssen bei der Interpretation der Reizeffekte berücksichtigt werden.

*Reizeffekte:*

Als die häufigste Form eines derartigen Herzeffektes kam die *Hemmung der Herztätigkeit* zur Beobachtung. Dies trat besonders dann in Erscheinung, wenn der Reiz in einer Phase hoher Schlagfrequenz

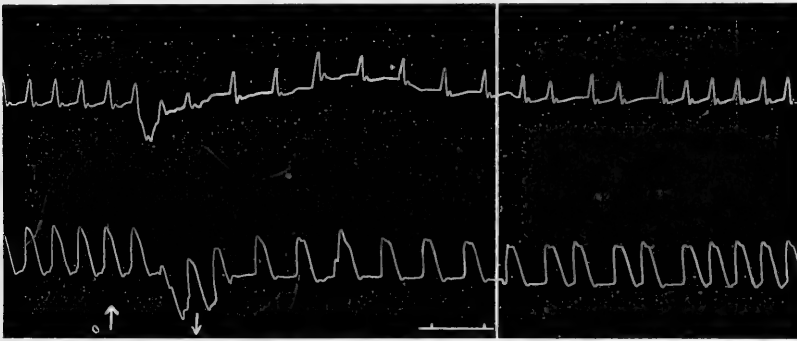


Abb. 1. Oben Vorhof, unten Ventrikel. Zeitmarke 1". Der aufwärts gerichtete Pfeil bedeutet hier wie auf allen übrigen Kurven Zug am Mesenterium. Der abwärts gerichtete Pfeil Loslassen. Der Zug am Mesenterium ist gefolgt von Verlangsamung. Beachte die Rückkehr zum frühern Rhythmus mit Gruppenbildung. (Die Verschiebung der Kurvenbasis nach unten bedeutet hier wie auf allen Kurven die durch den Zug am Mesenterium erfolgte geringe Verlagerung des Herzens.) An der Stelle der weißen Vertikallinie ist die Kurve zur Reproduktion um die angegebene Sekundenzahl gekürzt.

appliziert wurde. Diese Verlangsamung des Herzschlages war bisweilen von längerer, bisweilen von kürzerer Dauer. Als Beispiel für den ersten Fall diene Abb. 1 (Kurve 3).

Bemerkenswert ist auf dieser Kurve die allmählich erfolgende Rückkehr zum Ausgangsrhythmus über Gruppenbildung. Die gleiche Reaktion, wie sie in der Figur zum Ausdruck kommt, wurde bei diesem Versuchstier mehrfach beobachtet.

Als Beispiel für den 2. Fall (nur flüchtige Hemmung) diene Abb. 2 (aus Kurve 5). Auch hier fiel der auslösende Reiz in die hohe Schlagfrequenz.

Abb. 3, die einem Ausschnitt aus derselben Kurve entnommen ist, zeigt uns nun ganz andere Verhältnisse. Der Reiz wurde hier appliziert in einer Phase von langsamer Herztätigkeit und zwar kurz nach einem spontan erfolgten Umschlagen der in Abb. 2 registrierten hohen Frequenz; Resultat: eine *Beschleunigung der Herztätigkeit durch Zug am Mesenterium*.

Als Beispiel einer Mischung verschiedenartiger Reflexeffekte diene Abb. 4 (Kurve 7). Wir haben hier zunächst eine kurz dauernde Hemmung des gesamten Herzens bei rascher Schlagfrequenz nach Zug am

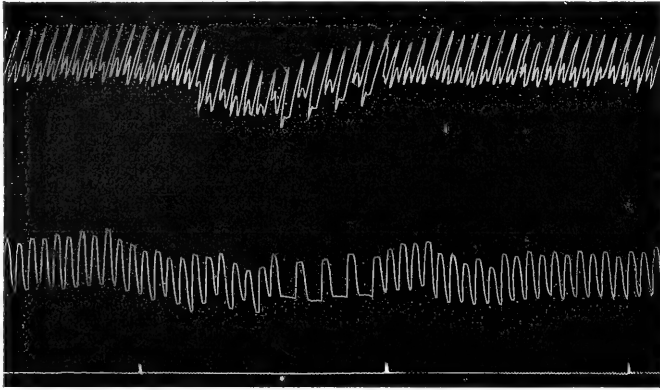


Abb. 2. Oben Vorhof, unten Ventrikel. Zeitmarke 6". Beispiel einer kurzdauernden Hemmung.

Mesenterium. Dann aber schlägt der Vorhof im ursprünglichen Rhythmus weiter, während noch eine Ventrikelsystole ausfällt, also eine *Leitungshemmung* in Erscheinung tritt. Endlich sehen wir in diesem Falle nach

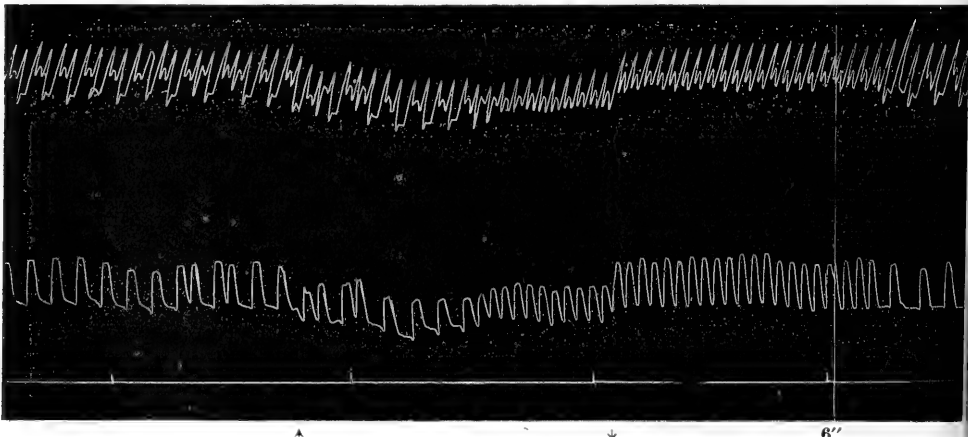


Abb. 3. Oben Vorhof, unten Ventrikel. Zeitmarke 6". Beschleunigung der Herztätigkeit durch Zug am Mesenterium. An der Stelle der weißen Vertikallinien ist die Kurve zur Reproduktion um die angegebene Sekundenzahl gekürzt.

Unterbrechen des längere Zeit am Mesenterium ausgeübten Reizes, wie die Vorhofsamplituden beträchtlich anwachsen. Nach Überschreiten eines Maximums nimmt die Höhe der Ausschläge dann ohne weiteres Dazutun wieder ab.

Abb. 5 (aus Kurve 2) zeigt bei voll entwickeltem Herzblock und rascher Vorhofsaktion eine reflektorisch ausgelöste Hemmung des Vorhofs beim Loslassen des Mesenteriums. Sie führt zu einem regelmäßigen langsamen Rhythmus des gesamten Herzens.

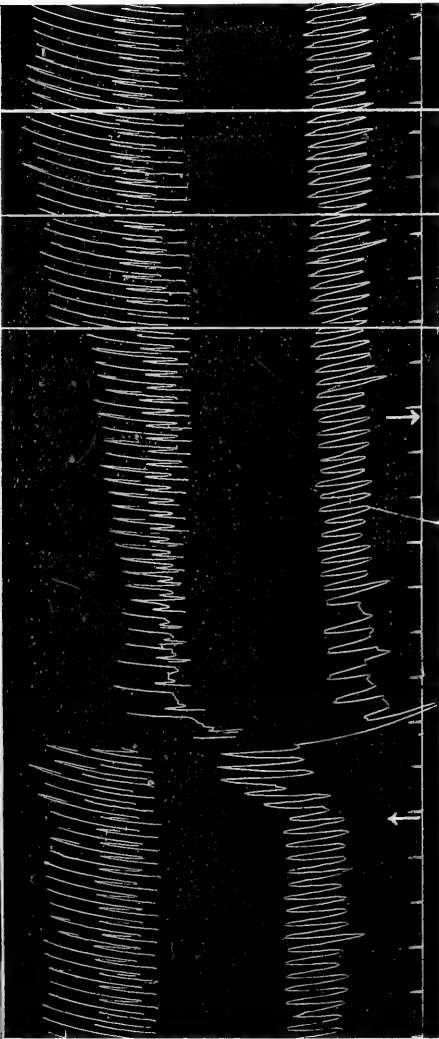


Abb. 4. Oben Vorhof, unten Ventrikel, Zeitmarke 1''. Bei Anfassen kurz dauernde Hemmung. Nach Loslassen des Mesenteriums Verstärkung der Vorhofstätigkeit. Vorher Ausfall einer Ventrikelsystole. An der Stelle der weißen Vertikallinien ist die Kurve zur Reproduktion um die angegebene Sekundenzahl gekürzt.

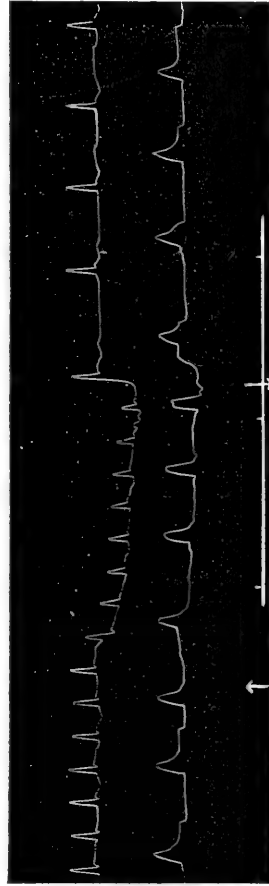


Abb. 5. Oben Vorhof, unten Ventrikel, Zeitmarke 3''. Herzblock, Änderungen des Vorhofrhythmus bei Loslassen des Mesenteriums.

Bei diesem selben Tier haben wir vorher interessante Beobachtungen auf derselben Kurve registriert. Leider eignen sich diese Kurvenabschnitte wegen mangelhafter Schreibung der Ventrikeltätigkeit nicht zur Reproduktion. Es handelte sich um Reize, die einer Phase voll-



Abb. 6. Schlechte Herzrätigkeit. Oben Vorhof, unten Ventrikel. Zeitmarke 1". Herzblock verstärkt durch Zug am Mesenterium.

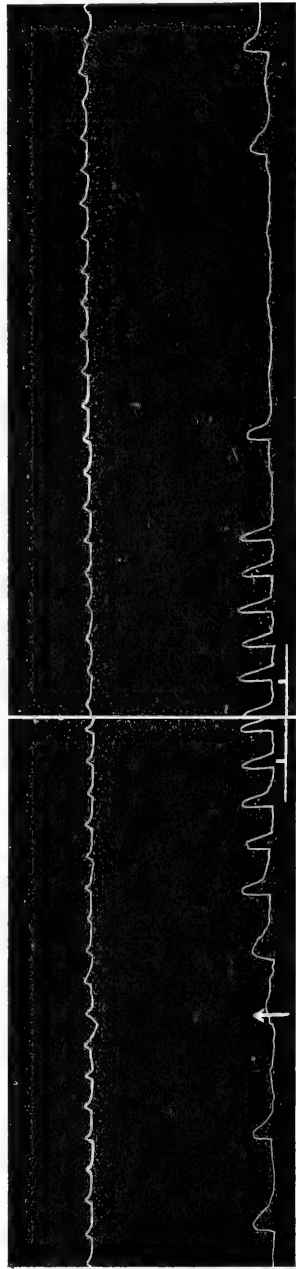


Abb. 7. Schlechte Herzrätigkeit. Oben Vorhof, unten Ventrikel. Herzblock gelöst durch Zug am Mesenterium. An der Stelle der weißen Vertikallinie ist die Kurve zur Reproduktion um die angegebene Sekundenzahl gekürzt.

ständiger Dissoziation zwischen Vorhof- und Ventrikeltätigkeit appliziert wurden. Und zwar war die Leitungsstörung insofern atypisch, als der Ventrikel häufiger schlug als der Vorhof. Einzelne der Ventrikelschläge unterschieden sich von den übrigen durch besonders hohe Amplituden, damit war die Erklärung nahegelegt, daß die Einfügung von Extrasystolen an der Überzahl der Ventrikelschläge schuld sei. Auf kurzen Zug am Mesenterium sprang die Vorhofsfrequenz augenblicklich in die Höhe bei vollkommen unbeeinflusster Ventrikeltätigkeit. Ein neuer gleichartiger Mesenterialreiz kurz nachher löste vorerst denselben Effekt aus, nach einiger Zeit aber verschwand dann auch plötzlich der Herzblock und es kam zu einer regelmäßigen Tachycardie des gesamten Herzens.

In Abb. 6 endlich, die Kurve 4 entnommen ist, sehen wir eine Verstärkung der bereits vorhandenen Leitungsstörung auf Zug am Mesenterium. Bemerkenswert ist, daß dieser Block durch dieselbe Reizart für kurze Zeit wieder aufgehoben werden konnte. Siehe Abb. 7.

#### *Diskussion der Resultate.*

Die im obigen beschriebenen Kurven liefern den experimentellen Beweis für die Existenz von Reflexbeziehungen zwischen Baucheingeweiden und Herz auch für die Säugetiere. Dies Resultat ist im direkten Gegensatz zu den Feststellungen von *Boruttau* und *Braun*. Markant ist dabei der Mangel jedweder Gesetzmäßigkeit in bezug auf die Art der Herzeffekte. Diese Mannigfaltigkeit der Resultate wird dadurch noch erhöht, daß gelegentlich das Anziehen des Mesenteriums ohne Effekt verläuft, dagegen das Loslassen einen Effekt hervorruft. Dieses Wechselvolle der Beziehungen erinnert ganz an die Resultate von *Engelmann* beim Frosch, wobei wir allerdings darauf Gewicht legen, daß in unserm Fall des Warmblütlers nur einerlei Reiz mit immer demselben Angriffsort zur Anwendung kam, während *Engelmanns* Untersuchungen alle möglichen Reizorte und Reizarten in sich schlossen.

Bei der Betrachtung unserer Ergebnisse erhebt sich natürlich die Frage, ob es sich hier um Reflexäußerungen handelt, die auch bei einem intakten Tier sich abspielend angenommen werden dürfen. Es steht außer Zweifel, daß unsere Versuchsbedingungen besondere Verhältnisse geschaffen haben, welche für die Intensität und Art und Weise der Effekte mit verantwortlich zu machen sind. Das gilt sowohl für das Decerebrieren (Diaschisiswirkung und Steigerung von Reflexerregbarkeit durch Wegfall von Hemmungen) als auch für die Bloßlegung des Herzens und endlich die künstliche Sensibilisierung durch die Phosphatlösung (Störung des Ionengleichgewichts im Blut?). Durch alle diese Momente kann die Ansprechbarkeit des Vagus- oder Acceleratorensystems verändert werden. Auf keinen Fall aber können *nicht*

*vorhandene Reflexbeziehungen* durch diese künstlichen Bedingungen *entstehen*.

Obgleich unsere Feststellungen unter anormalen Verhältnissen klargelegt wurden, haben sie unseres Erachtens dennoch grundsätzliche Bedeutung als experimentelle Belege für Herzsymptome, welche beim Menschen unter gewissen pathologischen Bedingungen zur Beobachtung kommen. Gerade das Anormale der Zustände schafft eine gewisse Parallele zu krankhaften Bedingungen. Wir denken dabei speziell an plötzliche Herzlähmungen im Verlaufe von Bauchoperationen, die als reflektorische Inhibition des Herzens zu deuten sind. Und ferner spielt ja gewiß die Sensibilisierung des Herznervensystems in der menschlichen Pathologie ebenfalls eine nicht geringe Rolle, z. B. beim plötzlichen Entstehen neuer Rhythmen, wie bei Anfällen von paroxysmaler Tachycardie usw. Von besonderem Interesse für die Kliniker sind auch die Beobachtungen über Verstärkung oder Lösung eines schon bestehenden Herzblocks auf reflektorischem Wege von den Baueingeweiden aus.

Eine weitere Aufgabe, deren systematische Bearbeitung speziell den Chirurgen interessieren muß, würde nun darin liegen, festzustellen, welchen Einfluß die Narkose auf diese Reflexmechanismen hat. Es ist mit der Möglichkeit zu rechnen, daß der Gefahr des reflektorischen Herzstillstandes mit Vertiefung der Narkose zu begegnen ist.

#### *Zusammenfassung.*

Bei decerebrierten Meerschweinchen wurden nach Eröffnung von Brust- und Bauchhöhle mechanische Reize in Form von Zug am Mesenterium appliziert und dabei die Herztätigkeit registriert. Es wird dabei die Tatsache belegt, daß von dieser Reizstelle aus die Herztätigkeit in sehr prägnanter Weise beeinflußt werden kann. Dabei kommt es sowohl zu experimentell erzeugten Tachycardien, Bradycardien als auch zur Erregung und Lösung von Herzblock. Daraus ergeben sich Anhaltspunkte betreffend Genese analoger Herzsymptome in der menschlichen Pathologie.

# Hodenatrophie nach Exstirpation des abdominalen Grenzstranges.

Von  
N. Takahashi.

• (Aus dem Physiologischen Institut der Universität Zürich.)

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Mai 1922.)

In Band 193 dieses Archivs habe ich<sup>1)</sup> über Untersuchungen berichtet, welche darauf abzielten, einen Beitrag zur Physiologie des Sympathicus zu liefern. Das Interesse galt in erster Linie dem heute zur Diskussion stehenden Thema der sympathischen Innervation des Skelettmuskels. Der Versuchsplan war durch die Überlegung gegeben, daß sich ein evtl. Einfluß der sympathischen Innervation auf den Skelettmuskel auch in der Erhaltung des Massenbestandes der Muskulatur Ausdruck verschaffen könnte. Im besondern war zu erwarten, daß bei einer Beteiligung des Sympathicus an der tonischen Innervation die operative Ausschaltung desselben eine mehr oder minder ausgesprochene Atrophie zur Folge habe. Das Resultat fiel — wie an anderer Stelle durch Zahlen belegt — absolut negativ aus. Einseitige Exstirpation des Bauchsympathicus im Bereiche der untern 3 Lumbal- und obern 1 bis 2 Sakralwirbel blieb ohne Rückwirkung auf das Totalgewicht der Muskulatur des gleichseitigen Hinterschenkels. Das Resultat war gleichlautend bei allen Tieren (Meerschweinchen), ohne Unterschied, ob der Intervall zwischen Operation und Tötung 14 Tage (kürzeste Kontrollzeit) oder 227 Tage (längste Kontrollzeit) dauerte oder aber dazwischen lag.

Gleichzeitig mit der Hinterschenkelmuskulatur wurden noch verschiedene Organe einer analogen Kontrolle unterworfen, d. h. es wurde auch bei diesen eine Rückwirkung der einseitigen, bei einzelnen Tieren auch doppelseitigen Sympathicusexstirpation auf den Massenbestand geprüft. So kamen von paarig angelegten Organen zur Untersuchung: Niere, Nebenniere, Ovarien, Hoden, Hinterschenkel-Skeletteile, Arterienstücke. Auch hier fielen die Resultate negativ aus, *ausgenommen bei Hoden*. Hier ergab sich ein sehr prägnanter Effekt. Wägung und Messung erwiesen den Hoden der operierten Seite als atrophisch.

<sup>1)</sup> N. Takahashi, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **193**, 322. 1921.

Die Ausnahmestellung, welche die Hoden gegenüber andern Organen einnehmen, legen naturgemäß den Gedanken nahe, es könnten Nebenverletzungen im Spiele sein. Als solche kommen in Frage Läsion des Vas deferens evtl. der Arteria spermatica. Positive Anhaltspunkte, welche eine solche Auffassung rechtfertigen, liegen keine vor. Leider mußten die Untersuchungen aus äußern Gründen vorläufig abgebrochen werden, so daß die geeigneten Kontrollexperimente noch nicht ausgeführt werden konnten.

Unabhängig von solchen besteht ein Interesse, unsere Ergebnisse durch histologische Untersuchungen zu ergänzen. Herr Dr. *B. Stotopolsky* vom Anatomischen Institut Zürich hat die Verarbeitung übernommen. Sein Bericht, für den ich an dieser Stelle gebührend danke, lautet:

„Die mir in Formol fixiert übergebenen Hoden bettete ich über Collodium in Paraffin ein, machte in verschiedenen Höhen des Organs 7,5, 10 und 15  $\mu$  dicke Querschnitte und färbte diese nach *van Gieson*.

Der Befund war bei den einzelnen Individuen folgender:

1. *Versuchstier Nr. 14.* (Linksseitig operiert. Intervall seit Operation 14 Tage. Hodengewicht rechts = 1,83 g, links = 1,11 g.) *Rechts:* Normal ausgebildete Spermio-genese. *Links:* Weitgehende Atrophie; Samenkanälchen von Sertolizellen ausgekleidet, daneben ab und zu (offenbar degenerierende) Reste des Samen-epithels. Zwischenzellen nicht vermehrt.

2. *Versuchstier Nr. 12.* (Doppelseitig operiert. Intervall seit Operation 17 Tage. Hodengewicht rechts 1,50 g, links 1,38 g.) *Beiderseits* durchaus normale Verhältnisse.

3. *Versuchstier Nr. 8.* (Linksseitig operiert. Intervall seit Operation 21 Tage. Hodengewicht rechts 0,60 g, links 0,61 g.) *Beiderseits* totale Atrophie. In den Tubuli nur Sertolizellen. Die Tubuli sind wesentlich enger, als bei den übrigen untersuchten Hoden, die Zwischenzellen treten stärker hervor.

4. *Versuchstier Nr. 6.* (Linksseitig operiert. Intervall seit Operation 59 Tage. Hodengewicht rechts 1,86 g, links 1,32 g.) *Rechts:* Normale Spermio-genese. *Links:* Geringfügige (d. h. nur streckenweise) Atrophie; es sind nur vereinzelte Tubuli auf den Schnitten, die lediglich Sertolizellen enthalten.

5. *Versuchstier Nr. 5.* (Doppelseitig operiert. Intervall seit Operation 117 Tage. Hodengewicht rechts 0,71 g, links 0,82 g.) *Rechts:* Ausgesprochene Atrophie. Die Schnitte lassen einen dunkler und gefüllter aussehenden zentralen und einen peripheren Abschnitt unterscheiden, der ganz hell und leer erscheint. In ersterem findet sich über den die Kanälchen auskleidenden Kernen der Sertolizellen eine geronnene faserige Masse, offenbar verflüssigtes Protoplasma von Samenzellen bzw. Sertolizellen in mehr oder minder reichlicher Menge; in den Kanälchen der hellen Randpartie ist diese Masse stark reduziert. In der peripheren Partie stoßen die sehr weiten Kanälchen fast lückenlos aneinander, in dem zentralen Bereich haben sie ein engeres Lumen und lassen eher etwelche Zwischenräume zwischen sich, in denen man *Leydig'schen* Zellen in recht spärlicher Zahl begegnet. Normal gefüllte Kanälchen sieht man in beiden Partien fast keine; die Tubuli erscheinen auf den Schnitten meist ausschließlich von Sertolizellen ausgekleidet; ab und zu finden sich neben diesen einige Spermio-gonien, weiter gegen das Lumen (offenbar degenerierende) Spermio-cyten. In den Kanälchen der Randpartien sind die Sertolizellen platter und spärlicher, Spermio-gonien und Spermio-cyten trifft man dort



weit seltener an, als im zentralen Teile. Die Kanälchen sind dabei nicht kollabiert; ihre bindegewebige Wand ist nicht verdickt; das intertubuläre Bindegewebe ist sehr spärlich; keinerlei Vermehrung der Zwischenzellen. *Links*: Mäßige Atrophie; neben zahlreichen gut gefüllten bzw. völlig normalen Tubuli sieht man atrophische Kanälchen, die dasselbe Bild bieten wie die atrophischen Kanälchen im zentralen Bezirk des rechten Hodens.

6. *Versuchstier Nr. 4.* (Linksseitig operiert. Intervall seit Operation 163 Tage. Hodengewicht rechts = 1,34 g, links = 0,38 g). *Rechts*: Normal. *Links*: Der betreffende Hoden fehlte unter den mir zur Untersuchung übergebenen Stücken; er hatte bei einer von anderer Seite gemachten Untersuchung eine starke Atrophie gezeigt.

7. *Versuchstier Nr. 1.* (Doppelseitig operiert. Intervall seit Operation 227 Tage. Hodengewicht rechts = 2,47 g, links = 2,55 g). *Beiderseits* völlig normale Verhältnisse.

Wir konstatieren mithin bei den einseitig operierten Tieren (mit Ausnahme des Tieres Nr. 8) eine auch histologisch deutlich ausgesprochene Atrophie an dem Hoden der operierten Seite bei völlig normalem histologischen Bilde des andersseitigen Hodens. Bei den doppelseitig operierten Individuen finden wir entweder beiderseits normale Verhältnisse (Nr. 12 u. Nr. 1) oder beiderseits Degeneration (Nr. 5). Die im histologischen Bild festzustellende weitgehende Atrophie der Hoden von Nr. 5 u. 8 harmoniert gut mit den für diese Hoden gefundenen auffallend niedrigen Gewichten. Für die bei den Versuchstieren zu beobachtende Hodenatrophie ist (wiederum mit Ausnahme von Nr. 8) Reduktion des Samenepithels *ohne* gleichzeitige Vermehrung des intertubulösen Bindegewebes und der Zwischenzellen charakteristisch. Von dem rechten Hoden des Tieres Nr. 5, der diese Atrophie am ausgesprochensten zeigt, gebe ich nachstehend zwei Abbildungen.

Man sieht ohne weiteres die minimale Ausbildung des Zwischengewebes; die weiten und nicht kollabierten, aber leeren Kanälchen stoßen eng, ja in manchen Partien lückenlos aneinander, ab und zu findet man zwischen ihnen ein paar Leydig'sche Zellen. Der Wandbelag der Tubuli wird von Sertolizellen gebildet, die an ihren typischen blassen Kernen mit den stark hervortretenden Kernkörperchen erkennbar sind<sup>1)</sup>; mitunter finden sich zwischen ihnen auch einige Spermio gonien, weiter gegen das Lumen auch gelegentlich (offenbar degenerierende) Spermio cyten, aber die Sertolizellen beherrschen das Bild. Ist die Atrophie weniger ausgesprochen (Nr. 5 links, Nr. 6 links), so sieht man neben Kanälchen mit normaler Spermio genese weniger gut gefüllte und leere, die nur von Sertolizellen ausgekleidet sind;

<sup>1)</sup> Anmerkung bei der Korrektur: Ich folge der herrschenden Übung, wenn ich diesen bekannten Wandbelag atrophischer Samenkanälchen mit der Bezeichnung „Sertolizellen“ belege; ich bin mir aber dabei wohl bewußt, daß es gar nicht sicher ist, ob diese Elemente mit den *differenzierten* Sertolizellen des normalen Hodens identisch sind, oder ob sie nicht vielmehr „indifferente“ Zellen darstellen.

auch hier keine Verengerung der Kanälchen und keine Vermehrung des Zwischengewebes.

Einen entschieden andern Eindruck machen die Hoden des Versuchstieres Nr. 8; hier sind die nur Sertolizellen enthaltenden Kanälchen eng, das intertubulöse Bindegewebe und die Zwischenzellen sichtlich vermehrt. Das Auffallende bei diesem Individuum ist einmal die doppelseitige, starke und gleichmäßige Atrophie, obwohl nur einseitig operiert wurde und ferner ihr abweichender histologischer Charakter. Beides scheint mir leicht zu erklären, wenn wir annehmen, daß das Versuchstier Nr. 8 eine Altersatrophie beider Hoden hatte, die unab-



Abb. 1. Schnitt durch den rechten Hoden des Versuchstiers Nr. 5. Mikrophotographie. Man sieht unten im Bilde die „zentrale“ dunklere und oben die „periphere“ hellere Partie, die Weite, Leere und das dichte Gefüge der Samenkanälchen; „keinerlei Vermehrung des Zwischengewebes“.

hängig von dem operativen Eingriff bestand. Ich weise diesbezüglich auf das Körpergewicht dieses Tieres hin, das es als älteres Meerschweinchen erscheinen läßt; auch hatte ich neulich Gelegenheit, bei einem offenbar alten Meerschweinchen, das ich aus anderm Anlaß untersuchte, eine Hoden-Atrophie vom gleichen histologischen Charakter zu beobachten.“

Wir müssen uns begnügen, diesen histologischen Befund den bereits früher ausgeführten über die makroskopisch erkennbaren Verhältnisse zur Seite zu stellen ohne eine endgültige Deutung zu geben.

Von besonderem Interesse erscheint die Tatsache, daß mit Ausnahme des letzt referierten Falles nichts von einer Hypertrophie des intertubulösen Bindegewebes und der Zwischenzellen feststellbar ist. Warum die eine Ausnahme, ist vorläufig nicht mit Sicherheit zu entscheiden.

Auffallenderweise ist bei diesem Individuum auch der rechtsseitige Hoden atrophisch, obgleich nur einseitig operiert wurde. Ich habe in der früheren Arbeit die Vermutung ausgesprochen, es könnte etwas vom rechtsseitigen Sympathicus, speziell im Bereich des kleinen Beckens wegen der großen Nachbarschaft der Gebilde mit herausgenommen worden sein. Wie mir jetzt auffällt, müßte diese Annahme auch für andere Tiere in Anspruch genommen werden; denn bei Vergleich mit Normaltieren zeigt *jeder Fall* linksseitiger Operation ein Zurückbleiben auch des rechten Hodens, wenn auch bei weitem nicht in dem ausgesprochenen Maße wie bei Tier Nr. 8. Nur hier ist die Atrophie rechts ebenso stark ausgeprägt wie links<sup>1)</sup>. Wenn wir uns schließlich die Frage vorlegen, auf welche Weise das Zustandekommen der Atrophie überhaupt zu erklären ist, sofern die Kontrollexperimente die oben er-

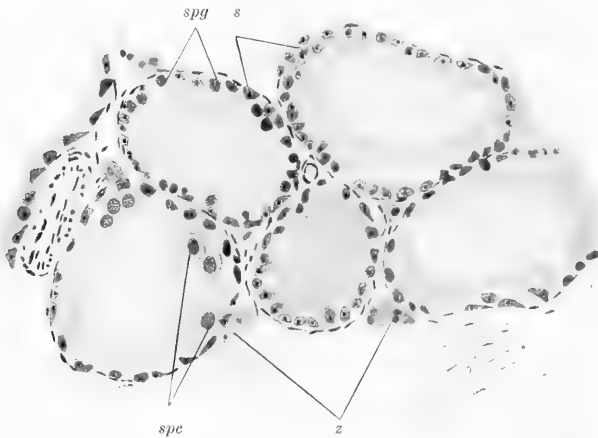


Abbildung 2. Stück aus der „zentralen“ Partie des Präparates, welches die Abb. 1 darstellt bei stärkerer Vergrößerung (330fache Vergr.). Auf  $\frac{2}{3}$  verkleinert. *s* = Kerne von Sertolizellen, *spg* = Kerne von Spermioyonien, *spc* = Kerne von Spermioeyten oder Spermioeytenzellen, *z* = Zwischenzellen.

wähnten Einwürfe als ungerechtfertigt erkennen lassen, so müssen wir die Antwort schuldig bleiben. Man kann daran denken, daß primär die Innervationsstörung der Blutgefäße schuld ist. Diese Erklärung erscheint aber nicht plausibel; denn die Rückwirkung der Sympathicus-exstirpation auf die Blutgefäße hat deren *Erweiterung* zur Folge. Ein anderer Gedanke ist die Auslegung unserer Befunde durch die Annahme der Zerstörung von sog. trophischen Nerven. Wir hätten hier direkt eine Demonstration der Existenz solcher. Gemäß der heutigen

<sup>1)</sup> Bei dieser Sachlage verdient der besondere histologische Befund bei Tier Nr. 8 Beachtung. Dieser legt, wie im histologischen Bericht schon angedeutet, den Gedanken nahe, daß es sich hier um eine von der Operation unabhängige Erscheinung handelt, nämlich um Altersatrophie.

Einstellung der Physiologie können wir uns aber schwer zu einer solchen Auffassung verstehen, sofern es sich um zentrifugale Nervenfasern handeln soll. Dagegen ziehen wir als eventuelle Ursache gestörter Trophik die Ausschaltung *afferenter* Fasern in Betracht. Wir tun dies entsprechend der von *W. R. Hess*<sup>1)</sup> entwickelten Vorstellung über die Regulierung der Gewebeerneuerung, nach welcher eine spezifische, alle Gewebe *durchsetzende* Sensibilität bei der Aufrechterhaltung des Gleichgewichtes zwischen Blutbedarf und Blutversorgung eine entscheidende Rolle spielt. In unserem konkreten Fall müßten wir den Faserverlauf dieser „chemischen Gewebesensibilität“ in sympathische Bahnen verlegen.

---

<sup>1)</sup> *Hess, W. R.*, Die physiologische Grundlage für die Entstehung der reaktiven Hyperämie und des Kollateralkreislaufes. *Brunns Zeitschr. f. klin. Chirurg.* **122**, H. 1. — Ferner *W. R. Hess*, Über die periphere Regulierung der Blutzirkulation. *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **168**, 439. 1917.

# Kurze Mitteilung.

(Aus dem Psycho-neurologischen Institut zu Moskau.)

## Das Weber-Fechnersche Gesetz bei der Arbeit des Menschenmuskels.

Von

W. W. Efimoff und Frau A. W. Efimoff,

Assistenten des Physikalischen Instituts und Psycho-neurologischen Instituts zu Moskau.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 7. August 1922.)

Trotz der ungeheuren Literatur über das *Weber-Fechnersche Gesetz*<sup>1)</sup> besitzt es noch immer für den Forscher großes Interesse, und fortwährend erscheinen neue, demselben gewidmete Arbeiten. Die dem *Weber-Fechnerschen Gesetz* gewidmeten Arbeiten können in zwei Gruppen eingeteilt werden:

1. Die Arbeiten der ersten Gruppe wollen das Gesetz mehr der Tiefe nach studieren. Hierher gehören z. B. der Artikel von *P. Lasarew*<sup>2)</sup> und die neuerdings in *Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol.* erschienene Arbeit von *Pütter*, die zu beweisen sucht, daß die *Weber-Fechnersche Formel*  $A = \log R$  nur eine Interpolationsformel darstellt.

2. Diejenigen der zweiten Gruppe stellen hauptsächlich Studien der Weite nach dar, nämlich im Sinne der Verwertung des genannten Gesetzes für diejenigen Lebenserscheinungen, wo es noch nicht angewandt war. Hierher gehören die Studien von *Stark*<sup>3)</sup> auf dem Gebiete der vegetativen Physiologie, sowie diejenigen von *V. Henri*<sup>4)</sup> auf dem

<sup>1)</sup> *W. Wundt*, Grundzüge der physiologischen Psychologie, 5. Auflage.

<sup>2)</sup> *P. Lasarew*, *Weber-Fechnersches Gesetz und ionische Theorie der Erregung*. Berichte des physikalischen Instituts zu Moskau. 1921. (Russisch.)

<sup>3)</sup> *P. Stark*, *Das Webersche Gesetz in der Pflanzenphysiologie*. Zeitschr. f. allg. Physiol. 18. 1920.

<sup>4)</sup> *V. Henri*, *Die Gesetze der Erregung mit ultravioletten Strahlen*. Arch. d. Scienc. phys. 1918.

Gebiete der Erregung der Cyklopen mittels ultravioletter Strahlen, wo es gelang, die Anwendbarkeit des *Weberschen* Gesetzes in der *Fechnerschen* Formulierung zu beweisen.

Die vorliegende Arbeit gehört zur zweiten Gruppe und bezweckt, das *Fechnersche* Gesetz auf die Arbeit des menschlichen *Musculus biceps* bei Hebung verschiedener Lasten und maximalem Tempo zu übertragen.

Unsere Studien wurden an Sportsleuten und Gymnasten der Schule für physische Kultur angestellt; die Methodik war sehr einfach. Der Betreffende nahm eine „Habtacht“-Stellung ein, bog dann seinen Arm im Ellbogengelenk bis auf  $45^\circ$  (Ausgangspunkt aller Versuche). Auf ein Signal sollte er *so schnell als möglich* den Vorderarm bis dicht an den Oberarm und zurück bewegen während 5 Sekunden.

Die Zahl der Bewegungen wurde notiert und dann wurde derselbe Versuch mit fortwährend wachsendem Gewichte fortgesetzt. Je größer das gehobene Gewicht wurde, desto geringer wurde natürlich die Zahl der Bewegungen (siehe Tabelle I).

Tabelle I.

Gewichte	lg der Gewichte	Zahl der Kontraktionen in 5 Sekunden	Leistung (die Arbeit pro 1 Sekunde)
0,6 kg	0,77 815 —1	15,6	0,65 Kilogrammmer
2,0 „	0,30 103	12,5	1,75 „
4,8 „	0,68 124	8,8	2,96 „
10,0 „	1,00 000	5,8	3,96 „
12,0 „	1,07 918	4,9	4,20 „
20,0 „	1,30 103	18,9	4,76 „
Ohne Gewicht (unbelasteter Arm)	—	3,4	—

Es zeigte sich nun, daß die maximale Zahl der Kontraktionen bei ein und demselben Individuum ziemlich konstant blieb und von Tag zu Tag nur in sehr engen Grenzen schwankt. Müdigkeit wurde natürlich sorgfältig ausgeschlossen.

Der Versuch selbst, wie die Kontrollversuche es zeigen, verursachte keine Ermüdung, ganz abgesehen davon, daß das zu hebende Gewicht vergrößert oder verringert wurde, da die Arbeitszeit ganz gering war (5 Sekunden).

So wurden 87 Mann untersucht, viele auch mehrfach. Mittlere Zahlenwerte aller Angaben geben wir in Tabelle I wieder. Wenn wir das Gewicht als „Reiz“, die Zahl der Kontraktionen als „Erregung“ bezeichnen, und laut der *Fechnerschen* Formulierung des Gesetzes  $A = \lg x$  (wo  $A$  = Größe der Erregung und  $x$  = Reiz) auf der Abszisse die Logarithmen der gehobenen Gewichte, und auf der Ordinate die Zahl der Kontraktionen während 5 Sekunden graphisch darstellen, so erhalten

wir eine Gerade, falls das oben genannte Gesetz bei Muskelarbeit anwendbar ist.

Wie die Kurve I auf Abb. 1 zeigt, liegen alle Punkte ziemlich genau geradlinig, mit Ausnahme des Punktes des unbelasteten Armes. (Dabei findet eine Abweichung statt wegen des zu kleinen Reizes.)

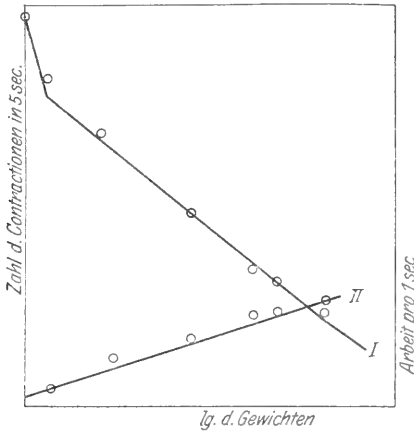


Abb. 1.

Wir finden also genau dieselben Abweichungen, die auch von anderen Forschern konstatiert worden sind. Zur Korrektur der genannten Abweichungen schlägt Pütter<sup>1)</sup> eine neue Formel statt der alten Fechnerschen vor.

Ferner wurde festgestellt, daß keine Proportionalität vorhanden ist zwischen Länge des das Gewicht hebenden Vorderarms (die Länge wurde gemessen vom Ellbogen bis zur Mitte des Handtellers) und der Zahl der Kontraktionen mit oder ohne Gewicht.

Tabelle II.

Länge des Vorderarms	Zahl d. Kontraktionen in 5 Sek.	
	ohne Gewicht	mit 0,6 kg
Romm 39 cm . . . .	19	17
Choroschkewitz 36 cm	19	17
Sosnin 39 cm . . . .	15	14
Getje 39,5 cm . . . .	20	17

Multiplizieren wir Gewicht und Zahl der Kontraktionen pro Sekunde, so erhalten wir Werte für die Leistung, d. h. die Größe der Arbeit in 1 Sekunde.

<sup>1)</sup> A. Pütter, Studien zur Theorie der Reizvorgänge. Pflügers Arch. f. d. ges. Phys. 171. 1918.

Tragen wir die erhaltenen Werte als Ordinaten in die Abb. I ein, so erhalten wir wiederum eine Gerade (II), die abhängt von den Logarithmen der Größe der zu hebenden Gewichte.

Dieselbe Gesetzmäßigkeit wird auch bei einer einmaligen individuellen Untersuchung beobachtet.

Abweichungen werden nur bei sehr starken Individuen mit mächtigen *M. biceps*, und zwar bei geringem Gewicht angetroffen. Also die Leistung des arbeitenden Muskels bei fortwährend steigendem Gewicht scheint dem *Weber-Fechnerschen* Gesetze unterworfen zu sein, falls die Kontraktionenzahl pro Sekunde maximal ist.



# Ist die Lunge undurchgängig für Ammoniak?

Von

G. Liljestrand, C. de Lind van Wijngaarden und R. Magnus.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Reichsuniversität Utrecht.)

(Mit 5 Textabbildungen.)

(Eingegangen am 5. Mai 1922.)

## Einleitung.

In einer 1902 erschienenen Arbeit vertritt *Magnus*<sup>1)</sup> die Auffassung, daß die Lunge für Ammoniak undurchgängig sei. Ausgangspunkt der Untersuchung war die Beobachtung von *Knoll*<sup>2)</sup>, daß bei tracheotomierten und vagotomierten Tieren auch länger dauernde Einatmung konzentrierter Ammoniakdämpfe keine Symptome hervorruft, während bekanntlich schon kleine  $\text{NH}_3$ -Mengen, intravenös eingespritzt, Atmungserregung, Krämpfe und zentral bedingte Kreislaufstörungen bewirken. Die zur Aufklärung dieses Widerspruches von *Magnus* angestellten Versuche schienen zu zeigen, daß die gesunde Lungenwand für  $\text{NH}_3$  undurchgängig ist. Erstens wurde die *Knollsche* Beobachtung bestätigt, zweitens wurde 0,35%  $\text{NH}_3$  in die Vena jugularis oder die Arteria pulmonalis in solchen Mengen eingespritzt, daß das Blut danach roch und darübergehaltenes Lackmuspapier bläute; die durch *Nesslers* Reagens streichende Expirationsluft ließ aber die Vorlage vollständig ungetrübt. Wurde aber die künstliche Atmung des Versuchstieres fortgesetzt, nachdem dieses durch Einspritzung einer größeren Ammoniakmenge getötet war, so trat nach einigen Minuten Trübung der *Nesslerschen* Flüssigkeit auf.

Den *Magnusschen* Schlußfolgerungen wurde von *Höber*<sup>3)</sup> widersprochen. Dieser findet es a priori unwahrscheinlich, daß die Lunge eine so gut lipoidlösliche Substanz zurückhalten soll, und glaubt, daß das experimentelle Ergebnis durch den hohen Absorptionskoeffizienten des  $\text{NH}_3$  bedingt sei (Absorptionskoeffizient für  $\text{O}_2$  0,045,  $\text{CO}_2$  1,713,  $\text{H}_2\text{S}$  4,686,  $\text{NH}_3$  1298,9), wodurch dieses nach intravenöser Einspritzung leicht im Blut und den Geweben festgehalten werden muß. Bei Durch-

<sup>1)</sup> *R. Magnus*, Schmiedebergs Arch. **48**, 100. 1902.

<sup>2)</sup> *Ph. Knoll*, Wien. Akad. Sitzungsber. III, **68**, 245. 1873.

<sup>3)</sup> *R. Höber*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **149**, 87. 1912.

leiten von Luft durch Blut mit verschiedenen Ammoniakmengen wird nach Höber  $\text{NH}_3$  erst mit *Nesslers* Reagens nachweisbar, wenn das Blut 0,095% Ammoniak enthält. Höber selbst findet nach *Einspritzung* von Ammoniak in die Art. pulmonalis nur einmal unter 7 Versuchen nach sehr schneller Injektion  $\text{NH}_3$  in der Ausatemungsluft; in den übrigen 6 Versuchen trat Lungenödem auf, wodurch nach seiner Annahme der Eintritt von Ammoniak in die Ausatemungsluft verhindert wird. In 2 weiteren Versuchen bestimmte Höber den Ammoniakgehalt des Blutes vor und nach der *Einatmung* von Ammoniak. Die Blutentnahme erfolgte gleichzeitig mit der  $\text{NH}_3$ -Inhalation. In dem einen Versuche stieg der Ammoniakgehalt des Blutes hierbei von 0,00061% auf 0,028%, in dem anderen von 0,001% auf 0,022%.

Die Einwände von Höber werden von *Magnus*, *Sorgdrager* und *Storm van Leeuwen*<sup>1)</sup> ausführlich erörtert. Es wird u. a. darauf hingewiesen, daß in den älteren Versuchen von *Magnus* das Blut immer nach Ammoniak roch und darübergerhaltenes Lakmuspapier bläute, also Ammoniak in abdunstungsfähigen Mengen enthielt; ferner, daß in diesen Versuchen kein Lungenödem aufgetreten war. In einer ersten Versuchsreihe wurde dann die Aufnahme von  $\text{NH}_3$  ins Blut bei Einatmung von Luft untersucht, welche durch 8,5%  $\text{NH}_3$ -Lösung gestrichen war. Es fand sich unter gewöhnlichen Versuchsbedingungen nach drei Minuten langer Einatmung ein Ansteigen des  $\text{NH}_3$  im Blute um nur 0,0023%, nach 6 Minuten langer Einatmung um 0,0035%, unter besonders günstigen Versuchsbedingungen nach 6 Minuten sogar nur um 0,0020%. Da in Fällen, in welchen die Trachealkanüle sehr hoch in der Trachea saß, nach 3 Minuten Zunahmen bis um 0,006% und nach 6 Minuten bis 0,008% gefunden wurden, war der Schluß naheliegend, daß durch die Trachealschleimhaut eine beträchtliche Ammoniakaufnahme stattfinden kann, und daher vermutet, daß die gefundene geringe  $\text{NH}_3$ -Aufnahme durch die Lungen ganz oder überwiegend auf Resorption durch die Bronchial- und Trachealschleimhaut zurückgeführt werden muß. — In anderen Versuchen wurde zur Erklärung der sehr viel höheren Ammoniakwerte von Höber gezeigt, daß der  $\text{NH}_3$ -Gehalt des Blutes sehr viel größer ausfällt, wenn die Blutentnahme zur Analyse während der Ammoniakinatmung stattfindet, wodurch nachweisbare Schädigungen (Hämorrhagien, Exsudate) in den Lungen auftreten.

Die zweite Versuchsreihe umfaßt Experimente an der überlebenden, am Brodieapparat mit Katzenblut durchströmten und künstlich getatmeten Katzenlunge. Die Expirationsluft entwich durch ein Seitenrohr der Trachealkanüle und blies gegen ein vor der Mündung desselben

<sup>1)</sup> R. Magnus, G. B. Sorgdrager und W. Storm van Leeuwen, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **155**, 275. 1914.

aufgehängtes Stück neutrales Lackmuspapier. Über dem geöffneten Thorax oder in dem Plethysmographen, welcher die Lunge einschloß, war ein gleiches Papier befestigt. In *allen* Fällen färbte sich das Lackmuspapier über dem Thorax bzw. im Plethysmographen nach Zusatz von 2 ccm 0,78—0,85%  $\text{NH}_3$  zu 75—150 ccm mit Kochsalzlösung verdünnten Blutes nach 45 Sek. bis höchstens 4 Min. blau. Dagegen blieb in 11 Versuchen das Lackmuspapier am Expirationsrohr unverändert, und nur in 2 Versuchen ließ sich nach dem beschriebenen Verfahren Ammoniak in der Expirationsluft nachweisen; in beiden Fällen handelte es sich aber um krankhaft veränderte Lungen. Bei gesunden Lungen trat keine nachweisbare  $\text{NH}_3$ -Ausscheidung ein, solange der  $\text{NH}_3$ -Gehalt des Durchströmungsblutes 0,015—0,024 % betrug, dagegen wurde das Lackmuspapier vor der Trachealkanüle gebläut bei Ammoniakgehalten zwischen 0,027 und 0,045%. Da nach 0,0080% im Blute bereits beim Kaninchen Krämpfe auftreten, liegen alle diese Werte hoch über den bei den *Knollschen* Versuchen möglichen Konzentrationen.

Im Jahre 1919 haben *Herzfeld* und *Klinger*<sup>1)</sup> gegen die referierten Versuche hervorgehoben, daß die Undurchlässigkeit der Lunge für Ammoniak nur eine scheinbare sei und in dem relativ hohen  $\text{CO}_2$ -Gehalt dieses Organes ihre Erklärung finde: „Denn aus ammoniumcarbonathaltigen Eiweißlösungen tritt Ammoniak nur dann in die Luft über, wenn sie sich in ihrer Alkalinität über diejenigen der Bicarbonate erheben.“ Es mag hier gleich darauf hingewiesen werden, daß dieser Einwand das Wesen der Sache nicht trifft, da die entscheidenden Versuche an der überlebenden isolierten Lunge angestellt wurden, welche, wie weiter unten gezeigt werden soll, so gut wie keine Kohlensäure ausscheidet.

Auch *Lipschitz*<sup>2)</sup> mißt der Kohlensäure große Bedeutung bei und meint, daß das Ammoniak bei seinem Durchtritt durch das Epithel der Lunge — dem Orte der größten  $\text{CO}_2$ -Entladung — an Kohlensäure gebunden wird und leicht als Ammoniumcarbonat oder -bicarbonat im Zellsaft in Lösung bleibt. Er macht ferner darauf aufmerksam, daß der Unterschied im Ammoniakgehalt des Blutes nach  $\text{NH}_3$ -Inhalation in den Versuchen, in welchen *während* und *nach* der Ammoniakeinatmung verblutet wurde, darauf beruhen kann, daß im ersten Falle ein Teil des aus der Carotis fließenden Blutes weder mit der entgiftenden Leber noch der ausscheidenden Niere in Berührung gekommen ist, während im letzteren Falle das Blut den ganzen Kreislauf durchlaufen hat. In eigenen Versuchen findet er nach Ammoniakeinatmung von 6—10 Min.

1) *E. Herzfeld* und *H. Klinger*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **173**, 385. 1919.

2) *W. Lipschitz*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **176**, 1. 1919.

Dauer (Inspirationsluft streicht durch 7% Ammoniaklösung)  $\text{NH}_3$ -Werte im Blut von etwa derselben Größe wie *Magnus, Sorgdrager* und *Storm van Leeuwen*. Er bestimmt aber außerdem die aus dem Inspirationsventil verschwundene sowie in einigen Fällen die im Expirationsventil wiedergefundene Ammoniakmenge und glaubt, daß man bei Berücksichtigung der während des Versuches aus den Ventilen verschwundenen Ammoniakmenge überhaupt keine höheren Werte im Blute zu erwarten hat, als sie tatsächlich gefunden werden. „Wählt man, um einen ungefähren Anhalt zu haben, als Durchschnittswert des gefundenen Blutammoniaks 0,004, und subtrahiert von der gebrauchten Gesamtmenge Ammoniak den im entsprechenden Expirationsventil wiedergefundenen Betrag, so kommt man — ebenfalls approximativ — zu einem im Respirations-traktus verschwundenen Wert von 0,04, also dem zehnfachen des Blutwertes, während das Gesamtgewicht von Kaninchen etwa das Dreizehnfache des Blutgewichtes beträgt.“

Durch die zuletzt genannte Arbeit von *Lipschitz* ist die Frage nach der Ammoniakaufnahme in der Lunge von neuem zur Diskussion gestellt. Denn durch den Nachweis, *wie klein die absoluten in den bisherigen Versuchen zur Einatmung kommenden Ammoniakmengen sind*, bekommen auch die von allen Experimentatoren gefundenen sehr geringen Ammoniakzunahmen im Blute der Versuchstiere eine erhöhte Bedeutung, und es fragt sich, besonders nach den Erfahrungen von *Lipschitz*, ob hierfür die Resorption von der Tracheo-Bronchialschleimhaut aus herangezogen werden muß. Demgegenüber bleibt aber immer noch der umgekehrte Versuch: keine Ammoniakausscheidung durch die Lunge, wenn abdunstungsfähiges Ammoniak im Blute kreist, *unerklärt*. Denn die Kohlensäurespannung in den Alveolen kann hierfür jedenfalls nicht die *ausschließliche* Ursache sein, sonst müßte die isolierte durchblutete Lunge zum Blute zugesetztes Ammoniak ausscheiden. Wenn also auch während des Lebens die Kohlensäure eine *unterstützende* Rolle spielen kann, so müssen noch andere Faktoren bei der benutzten Versuchsanordnung von Einfluß sein.

Zur Aufklärung dieser Verhältnisse haben wir die nachstehenden Versuche angestellt, welche zu dem Ergebnis geführt haben, daß das Alveolarepithel für Ammoniak *durchgängig* ist, aber zugleich die Erklärung für die früheren Versuchsergebnisse lieferten.

Alle Versuche wurden an der nach *Brodie* durchbluteten isolierten Katzenlunge angestellt, an der sich alle Versuchsvariablen quantitativ bestimmen lassen, wobei ferner eine Resorption durch die Tracheo-Bronchialschleimhaut keine wesentliche Rolle spielt, und wobei das zirkulierende Blut keine anderen Organe durchfließt, die den Ammoniakgehalt des Blutes vermindern können.

## II. Spannung und Menge der Kohlensäure im Blut bei der überlebenden, künstlich durchbluteten Lunge.

In denjenigen Versuchen von *Magnus, Sorgdrager* und *Storm van Leeuwen*, die unter den einfachsten Bedingungen ausgeführt wurden und demnach am beweisendsten erscheinen, nämlich in den Versuchen an der überlebenden, künstlich durchbluteten Lunge, wurde Blut, welches durch energisches Schlagen defibriniert und mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt war, verwendet. Es war schon im voraus wenig wahrscheinlich, daß unter diesen Bedingungen eine irgendwie größere CO<sub>2</sub>-Menge im Blute vorhanden sein kann; wir hielten es aber für wünschenswert, die Größe derselben durch direkte Versuche festzustellen.

Zur Ermittlung der CO<sub>2</sub>-Spannung und des CO<sub>2</sub>-Gehaltes des mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnten Blutes in der überlebend durchbluteten Lunge haben wir uns derselben Versuchsanordnung (nach *Brodie*) bedient, welche in der vorhergehenden Arbeit<sup>1)</sup> ausführlich geschildert ist, worauf wir hier verweisen können. Da die Vorbehandlung des Blutes von großer Bedeutung für seinen CO<sub>2</sub>-Gehalt ist, haben wir dasselbe, ebenso wie früher, stets in offenen Porzellanschalen defibriniert, ohne daß natürlich streng quantitativ gleiche Verhältnisse vorlagen. Nachdem am Durchblutungsapparat der künstliche Blutstrom und die Lüftung gut in Gang gekommen waren, wurde die CO<sub>2</sub>-Spannung des Blutes bestimmt. Da nach den Angaben von *Evans* und *Starling*<sup>2)</sup> die Kohlensäureproduktion der Lunge sehr klein ist (durchschnittlich  $\frac{1}{10}$  ccm pro Min. und kg Tier), wird sie auf die Menge und Spannung der Kohlensäure im Blute und in den Alveolen beim Durchblutungsversuch nur eine ganz verschwindende Wirkung haben. Es ist deshalb möglich, die Lunge selbst als Tonometer zu benutzen. Man braucht nur die Lunge aufzublasen und nach eingetretenem Spannungsausgleich zwischen Durchströmungsblut und Lungenluft eine Probe der Alveolarluft zu analysieren. Um letztere zu erhalten, haben wir in die Trachea eine T-Kanüle eingebunden, deren einer Schenkel mit der künstlichen Atmung in Verbindung stand, während der andere kurze Schenkel in der Wand eine feine Röhre zur Probeentnahme besaß und am Ende mit einem kurzen Schlauch versehen war. Die Entnahme einer Alveolarluftprobe geschieht nun folgendermaßen: Während einer Lufteinblasung aus der künstlichen Atmung wird das Seitenrohr der T-Kanüle mit Hilfe des Schlauches abgeklemmt, so daß also die Lunge aufgeblasen wird. Dann wird auch die Leitung von der künstlichen Atmung möglichst nahe der Kanüle abgeklemmt. Nach einer bestimmten Zeit wird dann der „schädliche Raum“ der Kanüle und der Bronchien ausgespült, wozu immer hinreichende Luft zur Verfügung steht. Zu diesem Zwecke wird das Seitenrohr der Kanüle schnell geöffnet und wieder geschlossen. Durch die Lungenelastizität wird dann eine hinreichende Luftmenge aus der Kanüle und der Lunge getrieben, und die Probe kann in gewöhnlicher Weise aus der erwähnten kleinen Seitenröhre entnommen werden.

Als Beispiel führen wir den folgenden Versuch an:

*Versuch 1.* (4. V. 1920). Katze von 2750 g wird in Äthernarkose verblutet und liefert 100 ccm Blut, das defibriniert und filtriert wird. Danach wird es im Durchblutungsapparat mit 45 ccm physiologischer NaCl-Lösung gemischt.

<sup>1)</sup> *Magnus, Sorgdrager* und *Storm v. Leeuwen*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **155**, 293. 1914.

<sup>2)</sup> *C. L. Evans*, Journ. of Physiol. **45**, 213. 1912; *C. L. Evans* und *E. H. Starling*, Journ. of Physiol. **46**, 413. 1913.

- 4<sup>h</sup> 20'. Beginn der Durchblutung. Durchblutungsdruck 25 mm Hg. Temperatur des Blutes 30°.
- 4<sup>h</sup> 23'. 4 kleine Tropfen Adrenalin zum Blut zugesetzt.
- 4<sup>h</sup> 25'. Pro 10 Sekunden strömen 44 ccm Blutgemisch durch die Lungen.
- 4<sup>h</sup> 27'. Durchblutungsdruck 21 mm Hg, Temperatur des Blutes 31,5°. Zunahme der Durchströmungsgeschwindigkeit.
- 4<sup>h</sup> 31'. Durchblutungsdruck 24 mm Hg.
- 4<sup>h</sup> 32'. Alveolarluftprobe (*Probe 1*), wird in oben beschriebener Weise entnommen, wobei die Spülung des schädlichen Raumes und die Probeentnahme *unmittelbar* nach dem Aufblasen der Lungen stattfinden.
- 4<sup>h</sup> 34'. Neue Alveolarluftprobe (*Probe 2*), jedoch wird Spülung und Probeentnahme erst ausgeführt, *nachdem die Lunge 20 Sek. lang in aufgeblasenem Zustande gewesen ist.*
- 4<sup>h</sup> 35'. Durchblutungsdruck 26 mm Hg, Bluttemperatur 33,6°.
- 4<sup>h</sup> 39'. 3 Tropfen Adrenalin zugesetzt.
- 4<sup>h</sup> 40'. Durchströmungsdruck 33 mm Hg. Strom nimmt ab (Lunge steht zu niedrig).
- 4<sup>h</sup> 44'. Lunge höher gesetzt. Strom nimmt sofort zu.
- 4<sup>h</sup> 45'. Durchblutungsdruck 35 mm Hg. Temperatur des Blutes 34,5°.
- 4<sup>h</sup> 45'. Alveolarluftprobe (*Probe 3*) wird entnommen wie *Probe 1*.
- 4<sup>h</sup> 46'. Alveolarluftprobe (*Probe 4*) wird entnommen wie *Probe 2*.
- 4<sup>h</sup> 47'. Lungenödem. Versuch abgebrochen.
- Gewicht der Lungen 53 g. Bar. 770 mm.

Die Analyse der Proben ergab:

	CO <sub>2</sub>	
	in Proz.	in mm Hg.
Probe 1 . . . . .	0,14	1,0
.. 2 . . . . .	0,14	1,0
.. 3 . . . . .	0,13	0,95
.. 4 . . . . .	0,13	0,95

Der Versuch zeigt, daß sehr schnell vollständiger Druckausgleich zwischen dem Blute und der Lungenluft eingetreten ist, da die Proben 1 und 2 bzw. 3 und 4 genau dieselben Ergebnisse lieferten, obgleich die Probeentnahme in 1 und 3 unmittelbar, in 2 und 4 dagegen erst 20 Sekunden nach dem Aufblasen der Lungen stattfand. Ebenso ergibt sich, daß die CO<sub>2</sub>-Produktion in der überlebenden Lunge innerhalb der Entnahmezeit nicht störend wirkt.

In dem ausgeführten Versuch betrug der gesamte „schädliche Raum“ der Trachealkanüle 2,4 ccm. Im Verhältnis dazu war die Spülung zweifelsohne mehr als hinreichend. In *mehreren* Versuchen haben wir uns auch durch graphische Aufzeichnung der Volumenänderungen der Lungen während der Spülung und Probeentnahme direkt hiervon überzeugt. Der folgende Versuch möge als Beispiel gelten.

*Versuch 4* (10. V. 1920). Zwei mittelgroße Katzen, in Äthernarkose verblutet, liefern insgesamt 140 ccm Blut, das defibrinisiert und filtriert und dann mit den 45 ccm physiologische NaCl-Lösung im Apparat gemischt wird. Die Lunge wird

in einen Plethysmographen<sup>1)</sup> eingeschlossen und die Volumenschwankungen während der künstlichen Atmung und bei der Probeentnahme mit dem Pistonrecorder registriert.

Durchströmung beginnt 3<sup>h</sup> 57'. Temperatur des Blutes 26°.

Um 4<sup>h</sup> werden 4 Tropfen Adrenalin zugesetzt.

4<sup>h</sup> 2'. Durchblutungsdruck 50 mm Hg, wird etwas vermindert.

4<sup>h</sup> 4'. Beginn der Registrierung.

4<sup>h</sup> 7'. Sehr guter Blutstrom. Temperatur 29°. Atemfrequenz 34 pro Min.

Volum des einzelnen Atemzuges etwa 20 ccm. Alveolarluftprobe wird nach vorheriger Aufblasung und Spülung entnommen.

Die Spülung umfaßt 32 ccm, die Probe etwa 20 ccm Luft.

Um 4<sup>h</sup> 8' 15". Alveolarluftprobe 2, gewonnen wie die vorige. Spülung mit 14 ccm, Probe von 15 ccm Luft. Atemfrequenz nachher 33 mit einer Größe der Atemzüge von 8,8 ccm.

4<sup>h</sup> 13'. Durchblutung 21 ccm pro 5 Sek. Versuch abgebrochen.

	CO <sub>2</sub>	
	in Proz.	in mm Hg.
Probe 1 . . . . .	0,27	2,0
„ 2 . . . . .	0,24	1,8

Barometer 766 mm.

Die in diesem Versuch gebrauchte Trachealkanüle hatte ein Volumen von 3,4 ccm, die Spülung war folglich 9,4 bzw. 4,1 mal größer.

Wir verfügen insgesamt über 9 Versuche dieser Art, wobei in allen Fällen die CO<sub>2</sub>-Spannung bestimmt wurde. In 3 von diesen Versuchen wurde außerdem auch die CO<sub>2</sub>-Menge und in 2 Fällen die O<sub>2</sub>-Menge des Blut-Kochsalzgemisches nach *Barcroft* bestimmt. Die verwendeten Apparate waren nach *Münzer* und *Neumann*<sup>2)</sup> kalibriert worden. In *Tab. I* sind die Versuche zusammengestellt. Die CO<sub>2</sub>-Spannung des Blutes schwankt innerhalb ziemlich enger Grenzen, nämlich 0,8 und 2,1 mm Hg. Es ist dies ein außerordentlich niedriger Wert, wenn man bedenkt, daß die Zimmerluft gleichzeitig 0,09% CO<sub>2</sub> enthielt, d. h. eine CO<sub>2</sub>-Spannung von 0,6 mm besaß. Auch der CO<sub>2</sub>-Gehalt des Blutes ist sehr niedrig: 2,3 bis 8 Vol.-Prozent. Die Werte liegen noch niedriger als die Beobachtungen von *Bohr*<sup>3)</sup>, und die von *Christiansen*, *Douglas* und *Haldane*<sup>4)</sup> zeigen, was ja auch wegen der Verdünnung des Blutes mit Kochsalzlösung zu

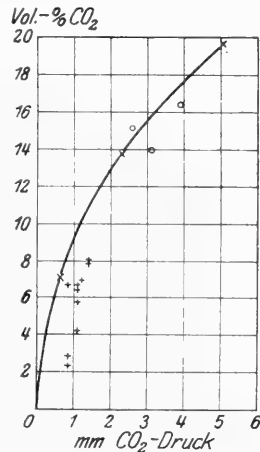


Abb. 1. Kohlensäurespannungskurve im Blut bei niedrigem CO<sub>2</sub>-Gehalt. x = Werte von Bohr. o = Werte von Christiansen, Douglas und Haldane. + = Werte von uns (verdünntes Katzenblut).

<sup>1)</sup> S. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **155**, 303. 1914.

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. **81**, 319. 1917.

<sup>3)</sup> Bohr, Nagels Handb. der Physiol. **1**, 105. 1909.

<sup>4)</sup> Journ. of Physiol. **48**, 244. 1914.

erwarten ist. (Vergleiche auch die niedrigen O<sub>2</sub>-Werte in Versuch 8 und 9.) Die Temperatur ist zwar in unseren Versuchen etwas niedriger, das reicht aber nicht aus, um die Wirkung der Verdünnung zu kompensieren.

Tabelle I.

Versuchs-Nr.	Blut im Apparat ccm	Physiol. Kochsalz-lösung in App. ccm	Zeit n. Beginn der Durchblutung Min.	CO <sub>2</sub> der Blutkochsalzmischung		O <sub>2</sub> des Blutkochsalzgemisches Vol. %	Temp. des Blutes Grad	Bemerkungen
				Spannung mm Hg	Vol. %			
1	100	45	11 24	1,0 0,95			30—34,5	Lungenödem Gewicht der Lungen 19,3 g pro kg
2	60	45	1,5	1,9			28	Etwas Ödem
3	75	45	0 7	2,1 1,1			28,5	
4	140	45	10 14,25	2,0 —			26—29	Gute Durchströmung
6	110	30	10 20 30	1,0 0,9 0,8			25—26	Gute Durchströmung
7	60	45	10 14 17	1,2 — 0,85	6,9 — 6,7		29—32	Gute Durchströmung Gewicht der Lungen 9 g pro kg
8	65	45	10 12 26 27	1,1 — 0,86 —	— 4,2; 5,8 — 2,3; 2,8	— 8,5; 9,4 — 8,6; 8,7	33,5—35	Sehr gute Durchblutung. Lungengewicht 8 g pro kg
9	55	45	10 19	1,4 1,1	7,8; 8,0 6,4; 6,7	8,0; 8,2 8,6; 8,5	35	Durchblutung ziemlich gut. Lungengewicht 10,6 g pro kg
10	142	0	10	1,5			29,5—31	Schlechter Strom (Glas- wolle in der Lungen- arterie).

Die Versuche lehren also, daß man *bei den Durchblutungsversuchen* mit einem CO<sub>2</sub>-Gehalt des Durchblutungsblutes von 2,3—8 Vol.-Proz., und mit einer alveolaren CO<sub>2</sub>-Spannung von 0,8—2,1 mm Hg zu rechnen hat. Im Vergleich zu den Verhältnissen im intakten Körper sind diese Werte minimal. Da die CO<sub>2</sub>-Spannung in den Alveolen nur wenig höher liegt als die der Zimmerluft, muß es zum mindesten als sehr unwahrscheinlich erscheinen, daß die Passage des Ammoniaks aus dem Blute durch die Lungenwände in die Außenluft bei diesen Versuchen durch die Kohlensäure verhindert wird.



Dagegen ist es natürlich durchaus nicht ausgeschlossen, daß die größeren  $\text{CO}_2$ -Mengen und -Spannungen *beim intakten Tier* einen Einfluß in dieser Richtung haben können. Hierauf wird später einzugehen sein.

### III. Quantitative Bestimmung der Ammoniakaufnahme durch die isolierte Lunge.

Die Bestimmungen des Ammoniakgehaltes des Blutes am ganzen Tier vor und nach Einatmung von Ammoniak als Maß der etwaigen  $\text{NH}_3$ -Aufnahme durch die Lungen leiden an dem Mangel, daß nur ein Teil des Ammoniaks im Blute bleibt, so daß es schwierig ist, aus derartigen Bestimmungen zuverlässige Angaben über die wirklich aufgenommene Ammoniakmenge zu erhalten. Hier bieten Versuche mit der überlebenden und künstlich durchbluteten Lunge große Vorteile, da das Blut-Kochsalzgemisch nicht mit anderen Geweben als der Lunge selbst in Berührung kommt, und außerdem die Menge des Durchströmungsbldutes bekannt ist. Während in der vorhergehenden Arbeit mit dieser Methode nur Versuche ausgeführt wurden, um den eventuellen Übertritt von Ammoniak aus dem Blute in die Expirationsluft festzustellen, ist der umgekehrte Weg an der isolierten Lunge bisher nicht verfolgt worden. Wir haben nunmehr eine Reihe solcher Versuche ausgeführt.

Die überlebende, künstlich durchblutete Lunge wurde hierbei stets in einen Plethysmographen eingeschlossen, und die Größe der Atemexkursionen von hier aus registriert. Nachdem der künstliche Kreislauf durch die überlebende Lunge eingeleitet worden ist, wird zuerst künstliche Atmung mit gewöhnlicher Luft ausgeführt. Es wird dann auch eine Probe der Blutkochsalzmischung zur Analyse auf  $\text{NH}_3$  genommen. Dann wird während einer gemessenen Zeit die Luft der künstlichen Atmung durch eine Waschflasche mit Ammoniaklösung (von 2,25 bis 8%) geleitet, so daß die Luft durch die Lösung streicht. Damit kein Ammoniak in die Zimmerluft entweichen kann, muß die Expirationsluft Flaschen mit Bimsstein und Schwefelsäure passieren, welche der Expiration keinen Widerstand bieten. Nachdem die künstliche Atmung mit  $\text{NH}_3$ -haltiger Luft genügend lang gedauert hat, wird eine neue Blutprobe entnommen. Die Proben werden nach der auch früher verwendeten, von *Krüger* und *Reich*<sup>1)</sup> angegebenen Methode analysiert. Die Zuverlässigkeit der Methode in der von uns gebrauchten Anordnung haben wir nach Zusatz einer bekannten Menge Ammoniak zum Blute geprüft; die Ammoniakmenge wurde hierbei quantitativ zurückgefunden. — Der Ammoniakgehalt der zugeführten Luft wurde so bestimmt, daß eine Luftprobe mit etwa derselben Geschwindigkeit wie in dem nachfolgenden Versuch mit der überlebenden Lunge, erst durch die  $\text{NH}_3$ -Lösung durch eine Waschflasche mit 25 ccm  $\frac{n}{10}$  Schwefelsäure und etwas Rosolsäure und schließlich in ein kleines, genau kalibriertes registrierendes Spirometer nach *Krogh* getrieben wurde. Durch Titrieren der Schwefelsäure ließ sich die von dem Luftstrom aufgenommene Ammoniakmenge bestimmen. Besondere Versuche zeigten in einer zweiten ähnlichen Waschflasche, mit  $\text{H}_2\text{SO}_4$  keine weitere  $\text{NH}_3$ -Aufnahme. Da durch die Entfernung des Ammoniaks das Volumen der durch die Schwefelsäure geleiteten Luft etwas vermindert wird, muß der gefundene Wert auf das ursprüngliche Volumen umgerechnet werden. In dieser Weise wird der Ammoniakgehalt der Luft *vor* und *nach* dem Versuche an

<sup>1)</sup> *M. Krüger* und *O. Reich*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **39**, 165, 1903.

der überlebenden Lunge bestimmt. Die Lüftung der Lunge während der Zufuhr von ammoniakhaltiger Luft ist leicht aus der plethysmographischen Kurve zu ermitteln. Wir sind also in der Lage, die gesamte zugeführte Ammoniakmenge zu berechnen. Andererseits gibt uns die Kenntnis der Blutmenge im Apparat sowie ihres  $\text{NH}_3$ -Gehaltes die nötigen Daten, um die durch die Lungen aufgenommenen  $\text{NH}_3$ -Mengen zu berechnen.

Der folgende Versuch möge zur Veranschaulichung dienen.

*Versuch 17* (21. VI. 1920). Eine Katze, in Äthernarkose verblutet, gibt 85 ccm definibriertes und filtriertes Blut. Von einer zweiten Katze (2,57 kg) werden 85 ccm Blut erhalten. Die 170 ccm Blut werden mit 45 ccm physiologischer Kochsalzlösung im Brodieapparat gemischt, und die Lunge der zweiten Katze in gewöhnlicher Weise mit dem Durchblutungsapparat verbunden und dann in den Plethysmographen eingeführt. Darauf wird eine Blutprobe von 30 ccm zur Bestimmung des normalen Ammoniakgehaltes entnommen.

10<sup>h</sup> 56' beginnt der Blutstrom.

10<sup>h</sup> 57' 3 Tropfen Adrenalin zugefügt.

10<sup>h</sup> 59' Durchblutungsdruck 30 mm Hg. Temperatur des Blutes 30°.

11<sup>h</sup> Durchblutungsdruck 40 mm Hg.

11<sup>h</sup> 3' Registrierung der Atemexkursionen beginnt, Durchblutungsdruck 36 mm Hg.

11<sup>h</sup> 7' Die Inspirationsluft wird durch eine Waschflasche mit Ammoniak (2,25%) geleitet, die Expirationsluft passiert durch zwei Türme mit Bimsstein und konzentrierter Schwefelsäure.

11<sup>h</sup> 9' Blutstrom sehr gut. Durchblutungsdruck 35 ccm, Temperatur des Blutes 32°.

11<sup>h</sup> 10' bis 11<sup>h</sup> 10' 10'' Blutprobe 2 wird entnommen (26 ccm).

11<sup>h</sup> 13' bis 11<sup>h</sup> 13' 15'' Blutprobe 3 wird entnommen.

Versuch abgebrochen. Gewicht der Lungen 9,8 g pro kg. Wenig Stauung, kein Ödem. Die Atmung war während des ganzen Ammoniakversuches gut. Die Ausmessung der Kurve ergibt für die Zeit 11<sup>h</sup> 7' bis 11<sup>h</sup> 10' 10'' eine gesamt Ventilation von 1,39 l. und für die Zeit von da bis 11<sup>h</sup> 13' 15'' von 1,27 l.

Die Luft der künstlichen Atmung enthielt hinter der Ammoniakflasche unmittelbar *vor* dem Versuch 0,0121 g  $\text{NH}_3$  pro l. Luft und unmittelbar *nach* dem Versuch 0,0115 g  $\text{NH}_3$  pro l. (Mittel 0,0118).

Die Analysen der Blutproben ergaben:

Blutprobe 1 : 0,0006%  $\text{NH}_3$ . Blutprobe 2 : 0,0026%  $\text{NH}_3$ . Blutprobe 3 : 0,0050%  $\text{NH}_3$ .

Die während der ersten bzw. zweiten Ammoniakperiode zugeführten  $\text{NH}_3$ -Mengen waren  $1,39 \times 0,0118 = 0,0164$  g und  $1,27 \times 0,0118 = 0,0150$  g  $\text{NH}_3$ . Von diesen Mengen wurde im Blute 185 (0,000026—0,000006) = 0,0037 g und 159 (0,00005—0,000026) = 0,0038 g gefunden. Das Verhältnis der wiedergefundenen  $\text{NH}_3$ -Menge zu der zugeführten beträgt folglich 1 : 4,4 (23%) und 1 : 3,9 (26%).

Die Möglichkeit, daß  $\text{NH}_3$  aus dem Blute während des Kreislaufs verloren geht (z. B. durch Diffusion durch die dünnen Gummimembranen des Brodieapparates) haben wir in der Weise geprüft, daß 90 ccm Blut und 45 ccm Kochsalzlösung im Apparat gut umgetrieben wurden (Schlauch statt Lunge). Dann wurde etwas  $\text{NH}_3$  zugefügt und eine Probe 1 (30 ccm) entnommen. Nach 12 bzw. 24 Minuten wurden die Proben 2 (30 ccm), und 3 entnommen. Der  $\text{NH}_3$ -Gehalt der Proben war:

Probe 1: 0,0134%, Probe 2: 0,0129%, Probe 3: 0,00123%. Der Verlust spielt also in unseren Versuchen eine sehr untergeordnete Rolle.

Mit der geschilderten Methodik haben wir insgesamt 8 Versuche ausgeführt, die in der Tab. II summarisch zusammengestellt sind.

Versuchsnummer	Dauer der Ammoniakatmung Min.	Gehalt der zugeführten Luft an Ammoniak (g pro Liter)		Ventilation in Liter während des Versuches	Zugeführte $\text{NH}_3$ -Menge in g	Blutmenge im Apparat im Versuch ccm	Prozent Ammoniak des Blutes		Absolute $\text{NH}_3$ -Zunahme des Blutes in g	Verhältnis d. abs. $\text{NH}_3$ -Zunahme d. Blutes zu d. zugeführten $\text{NH}_3$ -Menge	$\text{NH}_3$ -Konzentration in der Waschflasche %	Bemerkungen
		vor	nach				vor	nach				
		dem Versuch					dem Versuch					
11	4' 50"	0,040	0,038	2,1	0,082	110	0,00085	0,0126	0,0129	1 : 6,35	7,5—8	Blutstrom ziemlich schlecht, R. Lunge zeitweise nicht ventiliert. Lungenödem.
12	3'	0,041	0,033	1,36	0,050	113	0,0008	0,0109	0,0114	1 : 4,4	6,1	Stauung. Fast kein Ödem. Gew. d. Lung. 21 g pro kg.
13	3' 10"	0,033	0,034	2,33	0,078	155	0,00068	0,0192	0,029	1 : 2,7	—	Während kurzer Zeit keine Durchblutung. Sonst guter Strom. Gewicht der Lungen 11 g pro kg.
14	3'	0,029	0,0315	0,52	0,0157	130	— <sup>1)</sup>	0,0025	0,0023	1 : 6,8	—	Blutstrom nicht stark. Lungengonkursionen aufangs sehr klein, nehmen dann zu. Stauung. Kein Ödem. Lungengew. 22 g pro kg.
15	3' 30"	0,034	0,028	2,3	0,071	135	— <sup>1)</sup>	0,0077	0,00945	1 : 7,5	—	Gute Durchströmung. Atemzüge erst klein nehmen dann zu. Lungengewicht 12 g pro kg.
16	3'	0,028	0,026	2,15	0,058	163	— <sup>1)</sup>	0,0138	0,021	1 : 2,8	4,5	Atemung sehr gut. Lungengewicht 10 g pro kg. Unbedeutendes Ödem.
17	3' 10"	0,0121	0,0115	1,39	0,0164	185	0,0006	0,0026	0,0037	1 : 4,4	2,25	Guter Versuch s. Text. Lungengew. 10 g pro kg.
18	4' 5"	0,0114	0,0112	1,27	0,0150	159	0,0026	0,0050	0,0038	1 : 3,9	—	Atemung erst sehr unbedeutend, nimmt etwas zu. Strom gut. Lungen sehen norm. aus. Gew. 8 g pro kg.
	3'			0,783	0,00885	185	— <sup>1)</sup>	0,0027	0,0037	1 : 2,4	2,25	
				1,75	0,0198	158	0,0027	0,0048	0,0033	1 : 6	—	

<sup>1)</sup> Es wird in diesen Fällen mit einem Gehalt des „Normalblutes“ von 0,0007% gerechnet.

Die nähere Prüfung der Tabelle zeigt, daß in sämtlichen Fällen Ammoniak in nicht unbeträchtlichen Mengen im Blute wiedergefunden wird. Die Ergebnisse schwanken indessen sehr, so daß unter den günstigsten Verhältnissen (Versuch 16) 36 bis (Versuch 18) 42% der gesamten zugeführten Ammoniakmenge ins Blut aufgenommen ist, während das Minimum (Versuch 15) nur 13% beträgt. Wo die Ursachen dieser Unterschiede zu suchen sind, ist nicht leicht zu entscheiden. Zu erwähnen ist aber, daß zwei von den Versuchen mit kleinen zurückgefundenen Mengen (Versuche 11 und 14) technisch nicht gut gelungen sind. Doch wurde in dem technisch guten Versuch 15 auch nur 13% wiedergefunden.

Die Frage ist, wo ist das andere Ammoniak geblieben?

Es handelt sich relativ um beträchtlich, absolut aber um geringe Mengen (z. B. 0,05 g in Versuch 13, 0,06 g in Versuch 15). Ein Teil verdunstet, wie von Magnus, Sorgdrager und Storm van Leeuwen gezeigt wurde, von der Pleuroberfläche der Lunge, geht also in den Plethysmographen. Ein anderer Teil wird durch das Lungengewebe gelöst. Aus dem oben ausgeführten Kontrollversuch ergibt sich, daß durch die Gummimembranen des Apparates nur verschwindende Mengen entweichen. Auf Grund eines Versuches der früheren Arbeit (Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 155, 299. 1914) können wir diese Verluste zusammen zu etwa 4—5 mg in 5 Minuten annehmen. Hieraus ergibt sich, daß der größte Teil des Defizits durch die Schleimhaut der Trachea und Bronchien und außerdem durch die Flüssigkeitstropfen im Inneren der Trachealkanüle absorbiert sein muß (in Versuch 11 außerdem durch die Lungenödemflüssigkeit), was bei der enormen Löslichkeit des  $\text{NH}_3$  nicht Wunder zu nehmen braucht. Das die Schleimhaut der Luftwege Ammoniak aus ammoniakhaltiger Atemluft aufnimmt, ergibt sich schon aus der bei intakten Versuchstieren auftretenden starken Hyperämie und Reizung (a. a. O. S. 286). Lehmann<sup>1)</sup> hat nachgewiesen, daß bei einem Gehalt der Atemluft an 0,03%  $\text{NH}_3$  80—90% an den Schleimhäuten der oberen Luftwege absorbiert werden.

Da wir die Menge der geatmeten Luft durch Lungenplethysmographie bestimmten, kann der (in unseren Versuchen sehr kleine) schädliche Raum nur eine geringe Rolle spielen. Es ist aber auch außerdem möglich, daß die aus den Alveolen wieder ausgeatmete Luft nicht vollständig frei von  $\text{NH}_3$  gewesen ist.

Alle diese Momente lassen es erklärlich erscheinen, daß nicht 100% des in die Lungen eingeatmeten Ammoniaks im Durchströmungsblute wiedergefunden wird. Es ist dieses übrigens auch für die vorliegende Fragestellung von untergeordneter Bedeutung. Die Hauptsache ist, das überhaupt ein beträchtlicher Durchtritt von  $\text{NH}_3$  durch die Lungenwände stattgefunden hat.

Will man die von uns gefundenen Werte für Ammoniakaufnahme ins Blut mit denjenigen vergleichen, die Magnus, Sorgdrager und Storm van Leeuwen am intakten Tier erhielten, so ist zu berücksichtigen, daß sie die Inspirationsluft in einer Reihe von Fällen 3 bzw. 6 Minuten lang durch 8,5%, in anderen Fällen durch 2% Ammoniak streichen ließen. In unseren Experimenten wechselt der  $\text{NH}_3$ -Gehalt der Müllerventile in der Reihe der Versuche von 7,5—8 bis 2,25%. Es sind somit annähernd

<sup>1)</sup> K. B. Lehmann, Arch. f. Hygiene 17, 324. 1893.

unsere Versuche 11—13 mit denjenigen der Tab. I von *Magnus, Sorgdrager* und *Storm van Leeuwen* zu vergleichen, und unsere Versuche 17 und 18 mit ihrer Tab. III. *Die von uns gefundenen Werte sind nun etwa 2 · 6 bis 7 · 8 mal größer im ersten und 1 · 4 bis 8 mal größer im zweiten Falle*, wozu noch zu bemerken ist, daß die „Blut“-mengen in unseren Versuchen, besonders in den beiden letzterwähnten, ziemlich groß waren. *An und für sich sind ja auch in den Versuchen an der überlebenden Lunge viel größere Werte zu erwarten, da ja das Blut bei Versuchen am ganzen Tier wesentliche Mengen von Ammoniak an die Gewebe abgeben muß.* Um einen Eindruck von den quantitativen Verhältnissen hierbei zu erhalten, haben wir folgenden Versuch ausgeführt.

*Versuch 20 (25. VI. 1920).* Ein Kaninchen von 2,27 kg bekommt 1 g Urethan pro kg per os, dann werden Kanülen in die Art. Carotis und die Vena jugularis eingeführt. Dann wird 1 ccm 1,016%  $\text{NH}_3$  langsam in 3 Minuten intravenös injiziert. Keine Erregung oder Krämpfe. Nach 1 Minute Pause wird noch 1 ccm derselben Lösung in  $1\frac{1}{2}$  Minuten ebenfalls ohne Symptome eingespritzt. 1 bis  $1\frac{1}{2}$  Minuten nach der zweiten Injektion werden 25 ccm Blut aus der Carotis entnommen und auf  $\text{NH}_3$  analysiert. Der  $\text{NH}_3$ -Gehalt war 0,0019%, d. h. 0,001% höher als der Normalwert. Wird die Blutmenge zu 7% des Gewichtes gerechnet, d. h. zu 159 ccm, so müßte der  $\text{NH}_3$ -Gehalt des Blutes bei ausschließlicher Verteilung im Blute 0,0126% über den Normalwert liegen. *Die Verteilung zwischen Blut und Geweben beträgt folglich 1 : 12,6.*

Von Interesse ist, daß bei der Einspritzung keine Krämpfe entstanden, offenbar weil die Injektion so langsam vor sich ging. In ähnlicher Weise dürfte man die Erklärung des Fehlens von Krämpfen nach *Einatmung* von  $\text{NH}_3$  darin zu suchen haben, daß die zugeführten absoluten Mengen nicht groß genug sind, um die  $\text{NH}_3$ -Konzentration des Blutes bei allmählicher Aufnahme durch die Lunge hinreichend zu erhöhen. Stärkere  $\text{NH}_3$ -Konzentrationen oder langdauernde Einwirkung der schwächeren Konzentrationen führen zur Schädigung der Lungen.

Nimmt man die Versuche am intakten Tier in der früheren Arbeit sowie die Versuche von *Lipschitz* mit unseren quantitativen Befunden an die überlebende Lunge zusammen, so ergibt sich eine befriedigende Übereinstimmung. Die absoluten Mengen des eingeatmeten Ammoniaks sind gering; ein Teil wird an den Schleimhäuten der Luftwege absorbiert, ein Teil gelangt in die Alveolen und wird hier ins Blut aufgenommen. Beim Durchblutungsversuch ist der Ammoniakgehalt im Blute *höher* als beim intakten Tier. Zum Teil beruht das sicherlich auf dem Übertritt von  $\text{NH}_3$ -Salzen ins Gewebe. Ob beim intakten Tier die alveolare  $\text{CO}_2$  eine schützende Rolle spielt, wird später erörtert.

*Aus den in diesem Abschnitt mitgeteilten Versuchen geht also mit Sicherheit hervor, daß Ammoniak in deutlich nachweisbaren Mengen durch die überlebende, künstlich durchblutete Lunge aufgenommen werden kann.*

#### IV. Die Ammoniakausscheidung durch die isolierte künstlich durchblutete Lunge.

Nachdem in dem vorigen Abschnitt gezeigt ist, daß durch die isolierte Lunge Ammoniak aus der Atemluft ins Blut *aufgenommen* wird, erhebt sich von neuem die Frage, warum in den älteren Versuchen nach Ammoniakzusatz zum Blute dieses nicht in die Expirationsluft *ausgeschieden* wird. In diesen älteren Versuchen war sowohl am intakten Tier wie an der überlebenden durchbluteten Lunge eine solche Ammoniakkonzentration im Blute hergestellt worden, daß Ammoniak von der Pleurafläche der Lunge *abdunstete* und dort befindliches Lackmuspapier *bläute*. Trotzdem ließ sich in den älteren Versuchen mit *Nesslers* Reagens und in den neueren Versuchen an der überlebenden Lunge mit Lackmuspapier vor dem Seitenrohr der Trachealkanüle kein Ammoniak in der Expirationsluft nachweisen. Wie schon oben erwähnt, ist in den Versuchen an der überlebenden Lunge es vollständig ausgeschlossen, daß dieser Unterschied zwischen der Pleuraseite der Lunge und der Expirationsluft aus der Trachealkanüle auf dem Kohlensäuregehalte der Alveolarluft beruht, denn dieser ist nur wenig höher als der der Zimmerluft und kann daher im Durchblutungsversuche keine Rolle spielen.

##### Erste Versuchsreihe.

Wir haben uns zunächst nochmals von der Richtigkeit der ursprünglichen Beobachtung überzeugt und zu diesem Zwecke 5 Durchblutungsversuche angestellt. Hierbei wurde genau die gleiche Versuchsanordnung verwendet, wie bei der Arbeit von *Magnus, Sorgdrager* und *Storm van Leeuwen*. Die Lungen wurden also durch Einblasen von Luft künstlich geatmet. Vor der Mündung der Seitenröhre der Trachealkanüle war ein Stück angefeuchtetes neutrales Lackmuspapier aufgehängt, gegen welches die Expirationsluft blies. Über dem geöffneten Thorax des Tieres lag ein Stück weißes Schreibpapier mit viereckiger Öffnung, über welches ein anderes angefeuchtetes Stück neutrales Lackmuspapier ausgespannt war. Die Versuchsanordnung ist schematisch auf Abb. 2 wiedergegeben.

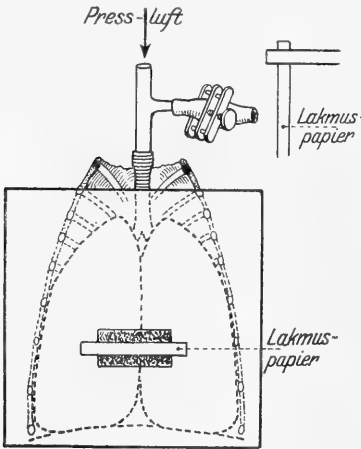


Abb. 2.

Der folgende Versuch mag als Beispiel mitgeteilt werden.

*Versuch 31* (10. XI. 1920). Die Anordnung des Brodieapparates war die gleiche, wie sie in der vorhergehenden Arbeit beschrieben ist. Die Luft, welche in

die Lunge geblasen wurde, strich durch eine Waschflasche mit Schwefelsäure welche durch Rosolsäure gefärbt war, und danach durch eine zweite Waschflasche mit destilliertem Wasser. Als Reagenspapier diente sehr empfindliches *neutrales* Lackmuspapier aus dem Laboratorium von Prof. *Ringer*. Das Papier über dem Thorax war über die viereckige Öffnung in einem Stück Schreibpapier gespannt, welches auf der Thoraxöffnung lag. Das Lackmuspapier vor der Trachea war in einer messingenen Klemme befestigt, aber vor dem Berühren mit dem Metall durch ein Stück Schreibpapier geschützt.

Füllung des Apparates mit 140 ccm Blut von zwei Katzen + 40 ccm Ringerlösung (zusammen 180 ccm).

Katze 2,05 kg. Äthernarkose. Tracheotomie. Durchtrennung der Vagi. Verblutung. Eröffnung des Thorax. Einführung der Kanülen in Art. und V. pulmonalis, welche mit dem Durchblutungsapparat verbunden werden.

2<sup>h</sup> 38' Beginn der Durchströmung. Durchblutungsdruck 29 mm Hg. Temperatur des Blutes 29°. Durchblutung gut.

2<sup>h</sup> 41' Druck 25 mm. Temperatur 30°. Linker Unterlappen atmet nicht gut mit.

2<sup>h</sup> 43' Druck 27 mm. Temperatur 31°. Durchblutung gut. Atmung ausgezeichnet.

2<sup>h</sup> 54' Druck 24 mm Hg. Durchblutung und Atmung vorzüglich.

2<sup>h</sup> 55<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' Zusatz von 2 ccm NH<sub>3</sub> (0,85%) zum Durchblutungsblut. Das Blutkochsalzgemisch enthält jetzt 0,0094% NH<sub>3</sub>.<sup>1)</sup> Danach keine Blaufärbung beider Lackmuspapiere.

2<sup>h</sup> 58<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' Zusatz von 1 ccm NH<sub>3</sub> (0,85%): im Durchströmungsblut sind jetzt 0,014% NH<sub>3</sub>.

2<sup>h</sup> 59<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' Noch keine Blaufärbung zu sehen.

3<sup>h</sup> 1' Zusatz von 1 ccm Ammoniak: im Blute jetzt 0,018% NH<sub>3</sub>.

3<sup>h</sup> 2' Das Thoraxpapier zeigt blaue Randverfärbung.

3<sup>h</sup> 3' Das Trachealpapier ist ungefärbt, das Thoraxpapier deutlich gefärbt, (also 8 Minuten nach der ersten und 2 Minuten nach der dritten Injektion).

3<sup>h</sup> 5' Deutliche Verfärbung des Thoraxpapieres, Trachealpapier vollständig ungefärbt, Durchblutung und Atmung während des ganzen Versuches vorzüglich.

3<sup>h</sup> 6<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' Thoraxpapier stark blaugefärbt, Trachealpapier vollständig ungefärbt. Der Versuch wird abgebrochen. Nach dem Versuche ist das Thoraxpapier (entsprechend der Öffnung in dem über dem Thorax befindlichen weißen Karton) stark blau. Das Trachealpapier zeigt keinen Unterschied der Farbe vor der Öffnung des Seitenrohrs der Trachealkanäle im Vergleich mit dem Teile des Papiers, das in der Klemme aufgehängt war. Die Lunge kollabiert während der Sektion vorzüglich, zeigt keine Hyperämie. Lungengewicht 20 g = 10 g pro kg. Bei sorgfältigem Auspressen erscheint keine Spur von Flüssigkeit oder Schaum an der Bifurkation.

*Ergebnis:* Bei einem Ammoniakgehalt von 0,018% im Blute war 4 Minuten nach der letzten Einspritzung das Thoraxpapier blau gefärbt, das Trachealpapier ungefärbt.

In den übrigen Versuchen ergab sich, daß bei einem Ammoniakgehalt des Durchströmungsblutes von 0,0155%, 0,013%, 0,016%, 0,024%, 0,014%, 0,018% das Papier über dem Thorax sich deutlich blau färbte, während gleichzeitig das Trachealpapier ungefärbt blieb. (In einem

<sup>1)</sup> Bei diesem und den folgenden Versuchen ist der geringe normale Ammoniakgehalt der Blutkochsalzmischung (im Mittel etwa 0,0006%) für die Berechnung unberücksichtigt gelassen.

Versuche, in welchem Lungenstarre auftrat, war  $3\frac{1}{2}$  Minuten nach Durchblutung mit 0,014%  $\text{NH}_3$  eine ganz minimale Blaufärbung am Trachealpapier zu sehen, während gleichzeitig das Thoraxpapier dunkelblau gefärbt war.)

*Die Versuchsreihe hat also eine völlige Bestätigung der früheren Beobachtungen gebracht. Nach Ammoniakkonzentrationen im Blute zwischen 0,013 und 0,024% trat eine deutliche Blaufärbung des Lackmuspapieres über den Thorax auf während das Trachealpapier ungefärbt blieb.*

In der vorhergehenden Arbeit konnte mitgeteilt werden, daß das Trachealpapier sich erst dann färbte, wenn der Ammoniakgehalt des Durchströmungsblutes Werte von 0,036%, 0,027%, 0,038%, 0,045% und 0,033% erreichte. Hiermit stimmt, daß nach unseren neueren Versuchen in einem Falle bei Durchblutung mit 0,033%  $\text{NH}_3$  nach 2 Minuten eine Spur von Blaufärbung des Trachealpapieres auftrat, und nach Durchströmung mit 0,053% nach  $6\frac{1}{2}$  Minuten das Trachealpapier deutlich blau wurde. Es ist also mehr als die doppelte Ammoniakkonzentration im Blute erforderlich, um in der Expirationsluft bei der hier gewählten Versuchsanordnung soviel Ammoniak erscheinen zu lassen, daß das Lackmuspapier vor der Trachealkanüle gebläut wird.

#### *Zweite Versuchsreihe.*

Die erste Versuchsreihe hatte die Richtigkeit der früheren Versuche vollinhaltlich bestätigt. Bei Ammoniakkonzentrationen im Blute unter 0,03% dunstet das Ammoniak von der Pleuraseite der Lunge ab, während bei der verwendeten Versuchsanordnung sich mit hochempfindlichem Lackmuspapier kein Ammoniak in der Expirationsluft nachweisen läßt. Nun haben wir aber oben zeigen können, daß bei *Einatmung* von ammoniakhaltiger Luft der  $\text{NH}_3$ -Gehalt des Durchblutungsblutes deutlich zunimmt, daß also das Alveolarepithel für Ammoniak durchgängig ist. Wie kommt es, daß bei Durchströmung der Lunge mit ammoniakhaltigem Blut das Gas nicht in der Expirationsluft erscheint? Von den verschiedenen Erklärungsmöglichkeiten erwies sich schließlich folgende als die richtige: Wird eine Lunge mit der künstlichen Atmung durch Einblasen ventiliert, und prüft man die Expirationsluft auf ihren Ammoniakgehalt vor dem Seitenrohr der Trachealkanüle, so wird diejenige Luft, welche in die Alveolen eingeblasen wird, sich dort eventuell mit Ammoniak beladen kann und bei der nachfolgenden Expiration durch das Seitenrohr der Trachea entweicht, *mit sehr viel Luft verdünnt*, welche gar nicht in die Alveolen der Lunge gelangt. Hierdurch muß der Ammoniaknachweis in der Expirationsluft beträchtlich erschwert werden. Auf der Pleuraseite der Lunge kann dagegen das Ammoniak einfach abdunsten und das über dem Thorax ausgespannte Lackmuspapier bläuen.



Um diese Möglichkeit zu prüfen, mußte eine Versuchsanordnung gewählt werden, bei welcher die Verhältnisse für den Ammoniacknachweis in der Exspirationsluft günstiger, in der Pleuraluft ungünstiger liegen. Zu diesem Zwecke wurde folgendermaßen vorgegangen:

Die Lunge wird (siehe Abb. 3) in einen Plethysmographen eingeschlossen. Als solcher dient ein weites Glasgefäß mit vierfach durchbohrtem Stopfen. Zwei der Öffnungen dienen für den Durchtritt des Durchströmungsblutes vom Brodieapparat zur Arteria und Vena pulmonalis. Die dritte Öffnung nimmt die Trachealkanüle auf. In die kelchartige Erweiterung wird das Lackmuspapier gelegt. Im ersten Versuche dieser Reihe mündete der Kelch frei in die Zimmerluft, in den folgenden Experimenten wurde ein mit Bimsstein und Schwefelsäure

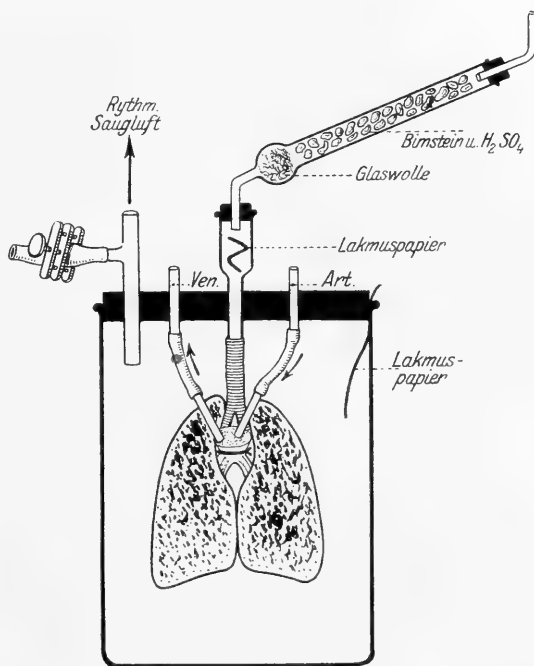


Abb. 3. Lunge durchblutet vom Brodie-Apparat.

gefülltes Röhrchen vorgelegt, um einen etwaigen Eintritt von  $\text{NH}_3$  aus der Zimmerluft auszuschließen. Die vierte Öffnung des Stopfens wurde für die künstliche Atmung benutzt. Zu diesem Zwecke wurde vom Blasebalg aus rhythmisch an einem T-Rohr gesaugt, dessen einer Schenkel in den Plethysmographen führt, während der andere frei in die Zimmerluft mündet. Dieser letztere kann mit einer Schraubklemme passend verlängert, und so jeder Grad der respiratorischen Entfaltung der Lungen eingestellt werden. Die Atemexkursionen der Lunge sind bei dieser Anordnung so ausgiebig, daß eine wirkliche Lüftung des Pleuraraumes bei der Atmung zustande kommt.

Als Beispiel diene folgendes Versuchsprotokoll.

*Versuch 35.* (17. XI. 1920.) Vorher war eine sehr sorgfältige Reinigung des Apparates vorgenommen worden. Die Gummischläuche, welche das Herz mit dem Durchblutungsapparat verbinden, werden erneut, der Kelch mit verdünnter Schwefelsäure gewaschen, und der Kork, mit welchem der Kelch an das Rohr mit Bimsstein angeschlossen ist, erneuert, ebenso der Atmungsschlauch. Im Apparat

selber war das Blut entfernt und ausgewaschen, alle Röhren und Schläuche mit strömendem Wasser durchgespült, bis alle Blutreste entfernt waren, der Apparat zusammengesetzt und darauf längere Zeit durchspült: a) mit Wasser, b) mit stark verdünnter Salzsäure, c) mit Ringerlösung, d) mit gewöhnlicher 0,9 proz. NaCl-Lösung.

Katze 2,18 kg. Bei der Verblutung 68 ccm Blut erhalten, welche mit 40 ccm Ringerlösung im Apparat gemischt werden.

10<sup>h</sup> 27' Beginn der Durchblutung. Druck 20 mm Hg. Gute Durchströmung. Sehr gute Atmung.

10<sup>h</sup> 36' Durchströmung vortrefflich. Atmung ausgezeichnet.

10<sup>h</sup> 38' Zusatz von 2 ccm NH<sub>3</sub> (0,85%). Im Durchströmungsblute sind also 0,015% NH<sub>3</sub>.

10<sup>h</sup> 39' (Eine Minute 20 Sekunden nach Ammoniakzusatz). Trachealpapier blau, Thoraxpapier (im Plethysmographen) unverändert.

10<sup>h</sup> 39<sup>3</sup>/<sub>4</sub>' (Eine Minute 45 Sekunden nach Ammoniakzusatz) Trachealpapier blitzblau, Thoraxpapier zeigt beginnende Blaufärbung. Schluß des Versuches. Keine Stauung. Lungengewicht 18,5 g = 8,5 g pro kg. Die Lunge ist makroskopisch normal, keine Spur von Lungenödem.

*Zusammenfassung:* Guter einwandfreier Versuch. Bei einem Gehalt des Durchströmungsblutes von 0,015% NH<sub>3</sub> färbt sich das Trachealpapier zuerst und wirkt schließlich stark blau, während das Thoraxpapier nur schwach blau gefärbt ist. Die Lunge zeigt am Schlusse normales Gewicht und keine Spur von Ödem.

Über das Ergebnis der nach dem gleichen Versuchsverfahren angeordneten Experimente unterrichtet nachstehende Tab. III (S. 265).

*Das Ergebnis dieser Versuche läßt an Deutlichkeit nichts zu wünschen übrig. In allen Fällen trat Blaufärbung des Trachealpapieres ein, allerdings von wechselnder Stärke und nach verschiedenen langer Zeit. In Versuch 34 und 35 wurde das Trachealpapier vor dem Thoraxpapier gefärbt, in Versuch 32, 33 und 36 das Thoraxpapier vor dem Trachealpapier, in Versuch 37 erfolgte die Färbung beider Papiere etwa gleichzeitig. Diese Unterschiede hängen zweifellos mit der von Versuch zu Versuch wechselnden Größe der Lüftung durch die künstliche Atmung zusammen. In einem Versuche (Nr. 37) erfolgte Bläuung des Trachealpapieres schon bei einem Ammoniakgehalte des Durchströmungsblutes von 0,0123%, in Versuch 33 und 35 bei 0,015%, in Versuch 32, 34 und 36 bei 0,021% und 0,022%.*

Hieraus ergibt sich also, daß, wenn man die Verdünnung der Expirationsluft durch den eingeblasenen Luftüberschuß der künstlichen Atmung vermeidet, und das Trachealpapier *im* schädlichen Raum der Trachealkanüle unterbringt, während man andererseits die Lunge in einem Plethysmographen anbringt und durch Saugung respiriert, wobei der Raum des Plethysmographen (künstlicher Pleuraraum) mehr oder weniger stark ventiliert wird, *sich der Übergang von Ammoniak in die Alveolen und die Trachea bei Durchströmung der Lunge mit ammoniakhaltigem Blute tatsächlich nachweisen läßt*, und zwar bereits bei

Tabelle III zu Versuchsreihe 2.

Versuchs-Nr.	NH <sub>3</sub> im Durchströmungsblut %	Dauer in Min.	Blaufärbung des Lackmuspapieres		Bemerkungen
			in der Trachealkanüle	im Plethysmographen (Pleuraseite)	
32	0,0147	3	0	0	Guter Versuch
	0,022	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	0	deutlich	—
	—	2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	0	stark	—
	—	3	minimal	stark	—
	—	0	—	—	Neue Lackmuspapiere
	—	2	0	deutlich	—
33	—	3	0	deutlich	Kein Ödem. Lunge 9,4 g pro kg
	0,0147	3	0	Beginn	Anfangs guter Versuch.
	—	5	0	stark	—
	—	5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	Beginn	stark	—
34	—	7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	—	—	Atmung nimmt ab auf 9 ccm. Spur Ödem. Lunge 12,6 g pro kg.
	0,0147	7	0	0	Luftembolie. Stauung. Kein Ödem.
	0,021	2	blau	0	Lunge 10 g pro kg.
35	—	3	blau	0	—
	0,015	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	blau	0	Guter Versuch s. Protokoll. Lunge 8,5 g pro kg
36	—	1 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	blitzblau	Beginn	—
	0,014	3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	0	0	Sehr guter Versuch
	0,021	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	0	Beginn	—
	—	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	0	stark	—
	—	3	Beginn	stark	—
	—	0	—	—	Neue Lackmuspapiere. Lunge 8,5 g pro kg
37	—	3	Beginn	0	—
	0,0123	2	Beginn	Beginn	Vorzüglicher Versuch. Lunge 8,8 g pro kg
—	4	stark	deutlich	—	

Größe des schädlichen Raumes der Trachealkanüle: weniger als 5 cm. Atemtiefe 20 cm und darüber.

Ammoniakkonzentrationen von 0,012—0,022%. Das sind Werte, bei denen in der ersten Versuchsreihe kein Ammoniak in der Expirationsluft nachweisbar war, und welche in einzelnen Versuchen nicht höher lagen, als diejenigen, bei welchen in der ersten Versuchsreihe Abdunsten des Ammoniaks nach der Pleuraseite erfolgte.

### Dritte Versuchsreihe.

In der ersten Versuchsreihe waren die Verhältnisse für den Ammoniaknachweis in der Expirationsluft ungünstig, an der Pleuraseite dagegen sehr günstig gewesen. In der zweiten Versuchsreihe waren umgekehrt die Verhältnisse für die Färbung des Thoraxpapiers ungünstiger, für das Trachealpapier dagegen günstig. In der dritten Versuchsreihe sollte

möglichst ein zwischen diesen Extremen liegender Zustand geprüft werden.

Zu diesem Zwecke wurde die Lunge nicht in den Plethysmographen eingeschlossen, sondern wie in der ersten Versuchsreihe in situ gelassen und durch Ausblasen von der Trachea aus ventiliert. Über dem geöffneten Thorax war das Lackmuspapier quer über die Öffnung eines Fensters ausgespannt, das in ein Stück Kartonpapier geschnitten war. Das Trachealpapier wurde nunmehr aber nicht vor dem Seitenrohr der Trachealkanüle aufgehängt, sondern lungenwärts von dem Seitenrohr in einer ballonförmigen Erweiterung der Trachealkanüle angebracht (Abb. 4), so daß hier nur diejenige Luft vorbeiströmte, welche wirklich zur Lüftung der Lunge verwendet wurde. Die ballonförmige Erweiterung der Trachealkanüle lag etwa in der Höhe der oberen Thoraxaperatur, so daß der schädliche Raum so klein wie irgend möglich gemacht wurde.

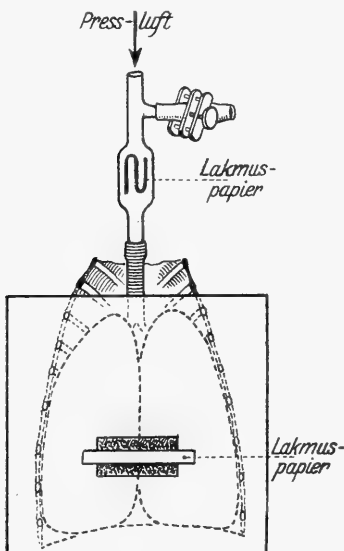


Abb. 4.

Folgendes Versuchsprotokoll diene zur Veranschaulichung.

Versuch 40 (24. XI. 1920). Katze 2,3 kg. Im Apparat 80 cem Blut und 40 cem Kochsalzlösung.

12<sup>h</sup> 1' Beginn der Durcuströmung. Geringer Blutstrom.

12<sup>h</sup> 2' Zwei Tropfen Adrenalin. Durchströmung besser.

12<sup>h</sup> 7' Zwei Tropfen Adrenalin. Darauf schwindet der vorher vorhandene Bronchialmuskelkrampf.

12<sup>h</sup> 10' Ausgezeichnete Atmung. Temperatur 32°. Blutstrom sehr gut. Durchblutungsdruck 34 mm Hg.

12<sup>h</sup> 11<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' Zusatz von 2 cem NH<sub>3</sub> (0,85%) zu 120 cem Durchströmungsblut. Ammoniakgehalt 0,0141%.

12<sup>h</sup> 12' Druck 34 Hg. Beträchtliche Zunahme des Blutstroms.

12<sup>h</sup> 14' Druck 22 mm. Sehr starke Durchströmung.

12<sup>h</sup> 14<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' (3 Minuten nach Ammoniakzusatz). Druck 30 mm. Trachealpapier und Thoraxpapier beide ungefärbt. Darauf Zusatz von 1 cem NH<sub>3</sub> 0,85%. Ammoniakgehalt jetzt also höchstens 0,021%.

12<sup>h</sup> 15' Lungenbewegungen lassen nach. Rechter Unterlappen atmet stark, rechter Oberlappen etwas, die übrige Lunge nicht.

12<sup>h</sup> 16<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' Druck 34 mm Hg. Strom maximal, beide Papiere ungefärbt.

12<sup>h</sup> 17<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' Beginnende Randverfärbung des Thoraxpapiers.

12<sup>h</sup> 18<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' Trachealpapier unverändert. Atmung viel besser. Die rechte Lunge atmet stark. Blutstrom dauernd vortrefflich.

12<sup>h</sup> 19' Atmung besser. Die Randverfärbung des Thoraxpapiers deutlicher. Trachealpapier fängt an sich zu verfärben.

12<sup>h</sup> 19<sup>1/2</sup>' Thoraxpapier und Trachealpapier beide blau.

12<sup>h</sup> 20' Schluß des Versuches. Die Lackmuspapiere werden auf weißes Papier gelegt und verglichen. Das Thoraxpapier zeigt schwache Randverfärbung. Das Trachealpapier ist an dem nach der Lunge zugekehrten Rande hin deutlich blau. (Die Verfärbung hat später angefangen, ist aber schließlich stärker geworden als die des Thoraxpapiers).

Lunge atmete gut, ist makroskopisch normal, zeigt kein Ödem. Lungengewicht 9,4 g pro kg.

*Zusammenfassung:* Bei einem Gehalte des Durchblutungsblutes von 0,021% beginnt das Thoraxpapier sich nach 3, das Trachealpapier nach 4 Minuten zu verfärben und ist nach 5 Minuten deutlich blau. Nach 6 Minuten ist das Trachealpapier stärker gefärbt als das Thoraxpapier. Kein Lungenödem.

Das Ergebnis der nach diesem Verfahren angestellten Tierversuche ersieht man aus nachstehender Tab. IV.

Tabelle IV zu Versuchsreihe 3.

Versuchs-Nr.	NH <sub>3</sub> im Durchströmungsblut %	Dauer in Min.	Blaufärbung der Lackmuspapiere		Bemerkungen
			in der Trachealkanüle	über dem Thorax	
38	0,0147	2 <sup>1/2</sup>	0	Beginn	Lunge 9,2 <sup>g</sup> pro kg. Kein Ödem
	—	3 <sup>1/2</sup>	deutlich	deutlich	—
39	0,0155	3 <sup>1/2</sup>	0	Beginn	—
	—	5	0	Rand blau	Guter Versuch
	0,0231	0	—	—	Neue Lackmuspapiere
	—	1 <sup>1/2</sup>	0	Rand blau	Guter Versuch
	0,031	0	—	—	Neue Lackmuspapiere
	—	1	0	Rand blau	Atmung schlechter
	—	0	—	—	Neue Lackmuspapiere
	—	3	0	Rand blau	Stauung, schlechte Atmung, Ödem
					Lunge 27,7 g pro kg
40	0,0141	3	0	0	Guter Versuch
	0,021	3	0	Beginn	Lunge 9,4 g pro kg
	—	5	deutlich	deutlich	—
41	0,018	3	0	deutlich	Guter Versuch
	—	5 <sup>1/2</sup>	0	deutlich	Lunge 9,7 g pro kg
	—	11	deutlich	deutlich	—

In dieser Reihe ist in allen Fällen die Färbung des Thoraxpapiers eher aufgetreten als die des Trachealpapiers, aber in 3 von 4 Versuchen erfolgte auch jetzt Blaufärbung des Trachealpapiers. Diese trat ein: bei einem Gehalt des Durchströmungsblutes an 0,0147% nach 3<sup>1/2</sup> Minuten, bei einem Gehalt von 0,021% nach 5 Minuten und bei einem Gehalt an 0,018% nach 11 Minuten. *Es ließ sich also auch in*

*dieser Versuchsreihe die Ammoniakausscheidung durch das Alveolarepithel bei den angegebenen Ammoniakkonzentrationen mit Sicherheit nachweisen.*

Das Ergebnis der drei Versuchsreihen ist deutlich genug. Bei einem Gehalt des Durchströmungsblutes an 0,012—0,015—0,018% dunstet das Ammoniak an der Pleuraseite der Lunge ab und läßt sich hier durch die Blaufärbung an Lackmuspapier nachweisen. Der Nachweis des Ammoniaks in der Expirationsluft aus der Trachea hängt von den Versuchsbedingungen ab. Atmet man durch Einblasen von Luft und hängt das Lackmuspapier vor das Seitenrohr der Trachealkanüle, so daß die Ausatemungsluft stark verdünnt wird, so gelingt der Ammoniaknachweis erst bei einem Gehalt des Durchblutungsblutes über 0,03%. Wird dagegen die Lunge durch Saugen künstlich geatmet und das Lackmuspapier im schädlichen Raume d. h. in einer Erweiterung der Trachealkanüle angebracht, so kann unter Umständen die Blaufärbung schon bei einem Gehalt des Durchblutungsblutes von 0,0123% nach 2 Minuten deutlich werden. In anderen Fällen trat sie erst bei 0,015 und 0,021% auf. In manchen Fällen dieser Versuchsreihe erfolgte die Blaufärbung des Trachealpapieres früher als die des Thoraxpapieres. Wird dagegen die Lunge von der Trachea aus durch Einblasen künstlich geatmet, und das Lackmuspapier im schädlichen Raum, d. h. in einer Erweiterung der Trachealkanüle untergebracht, so war in einem Versuche bei einem Gehalte des Durchblutungsblutes von 0,0147% die Blaufärbung nach 3 $\frac{1}{2}$  Minuten deutlich, in anderen Versuchen erfolgte sie erst bei höheren Ammoniakgehalten (0,018 und 0,021%). Hieraus ergibt sich, daß auch für die Ausatmung des Ammoniaks an der künstlich durchbluteten überlebenden Lunge die Durchgängigkeit des Alveolarepithels für NH<sub>3</sub> sich nachweisen läßt, und daß in den früheren Arbeiten erhaltene Ergebnis, welches zu der Annahme der Undurchgängigkeit der Alveolarwand für Ammoniak führte, auf den Besonderheiten der Versuchsanordnung beruht.

#### *Vierte Versuchsreihe.*

In den Versuchen an der isolierten, überlebenden, künstlich durchbluteten Lunge spielt, wie im ersten Abschnitt der Arbeit gezeigt werden konnte, der Kohlensäuregehalt der Alveolarluft keine Rolle. Es erhebt sich aber nunmehr die Frage, in wieweit beim lebenden Tier, bei welchem die Alveolarluft normaliter 5—6% Kohlensäure mit einer Spannung von durchschnittlich 40 mm und darüber enthält, der Kohlensäuregehalt der Alveolen die Ammoniakausscheidung durch die Lungewände erschwert. Um dieses festzustellen wurde die vierte Versuchsreihe angestellt, in welcher die isolierte, künstlich durchblutete Lunge Luft mit einem Kohlensäuregehalt von ungefähr 5—6% einatmete.

Die Versuchsanordnung war folgende:

Die Lunge war (Abb. 5) genau wie in der zweiten Versuchsreihe in einem Plethysmographen eingeschlossen und wurde durch Saugen künstlich geatmet. In der Trachea befand sich dieselbe Trachealkanüle wie in Versuchsreihe 2. An Stelle des mit Bimsstein und Schwefelsäure gefüllten Glasrohres wurde nunmehr aber mit Hilfe einer möglichst

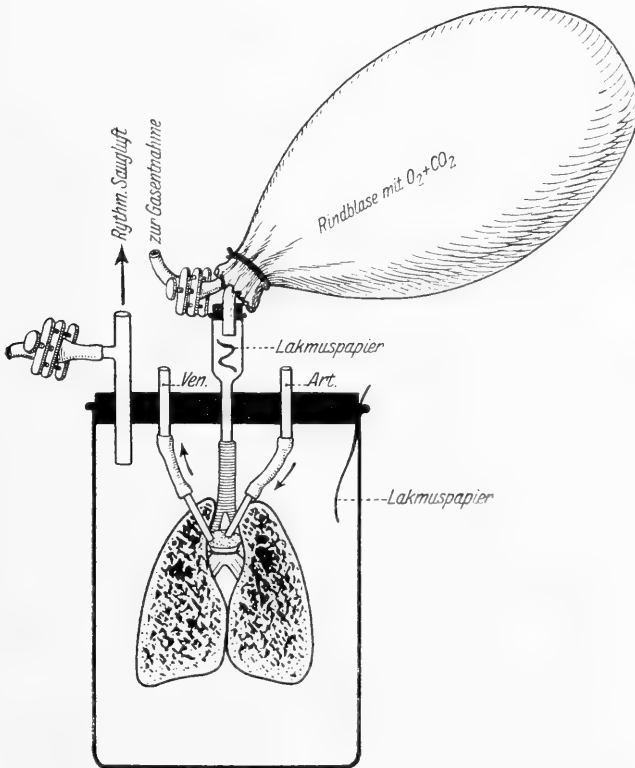


Abb. 5. Lunge durchblutet vom Brodie-Apparat.

kurzen Rohrverbindung ein Atmungssack vorgeschaltet, der mit Sauerstoff und einem bestimmten Prozentgehalt  $\text{CO}_2$  gefüllt war. Als Atmungssack diente eine vom Schlachter bezogene geräucherte und getrocknete Rinderblase, welche in Wasser aufgeweicht wurde. Die Öffnung war auf einen durchbohrten paraffinierten Kork gebunden. Durch diesen führte ein kurzes gebogenes Glasrohr zur Trachealkanüle und außerdem ein verschiebbares Metallröhrchen zur Probeluftentnahme, um am Anfang und Ende des Versuches den Kohlensäuregehalt im Atmungssack bestimmen zu können. Der gesamte schädliche Raum, d. h. die Trachealkanüle mit ihrer Erweiterung und das in den Luftsack führende Glasrohr

hatten zusammen einen Inhalt von 7 ccm. Während des Versuches konnte man deutlich die Exkursionen der Rindblase bei der künstlichen Atmung sehen.

Der verwendete Sack bewährte sich für unsere Zwecke sehr gut. In einem Versuche wurde die Blase mit einem Sauerstoff-Kohlensäuregemisch von 7,95% CO<sub>2</sub> gefüllt. Nach einer halben Stunde fand sich ein Kohlensäuregehalt von 7,61%, also eine Abnahme von 0,34% in 30 Minuten. Für die kurzen Perioden in unseren Versuchen ist daher der Kohlensäuregehalt der Blasenluft als ziemlich konstant anzunehmen. In einigen Versuchen war es notwendig während der Durchströmung den Atmungssack zu entfernen, um das Lackmuspapier in der Trachealkanüle zu wechseln. Auch hierdurch werden keine großen Veränderungen des Blaseninhaltes bedingt. In der ganzen Versuchsreihe wurde einmal ein Unterschied vor und nach dem Versuche von 1,2% CO<sub>2</sub> festgestellt, sonst bewegten sich die Differenzen der beiden Bestimmungen zwischen 0 und 0,8%. In der nachfolgenden Tabelle ist immer das Mittel aus beiden Kohlensäurebestimmungen angegeben.

Sämtliche Kohlensäurebestimmungen in der Luft wurden von Dr. J. W. Le Heux nach dem Hempelschen Verfahren vorgenommen, wofür wir ihm auch an dieser Stelle bestens danken.

Die Atemexkursionen der Lunge wurden stets so groß gewählt, daß der schädliche Raum eine möglichst geringe Rolle spielte, die Atemtiefe betrug bis zu 50 ccm.

Folgendes Versuchsprotokoll diene als Beispiel.

*Versuch 46* (12. I. 1922). Katze 3 kg. Im Apparat 100 ccm Blut und 40 ccm physiologische Kochsalzlösung = 140 ccm.

2<sup>h</sup> 27' Beginn der Durchströmung. Druck 25 mm Hg.

2<sup>h</sup> 30' Sehr starker Strom, vortreffliche Durchblutung. Druck 30 mm Hg. Thorax- und Trachealpapier eingelegt.

2<sup>h</sup> 30<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' Einfügen des Atmungssackes.

2<sup>h</sup> 31' Durchblutung vortrefflich im Gange. Temperatur 30,5°. Druck 24 mm Hg.

2<sup>h</sup> 35<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' Erste Luftprobe aus dem Atmungssack entnommen.

2<sup>h</sup> 36' 2 ccm NH<sub>3</sub> 0,83% zugesetzt. Ammoniakgehalt des Durchströmungsblutes 0,0119%.

2<sup>h</sup> 36<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' Thorax- und Trachealpapier ungefärbt. Zunahme des Blutstromes. Druck 23 mm Hg. Sehr kräftige Atmung. Blase atmet stark mit.

2<sup>h</sup> 38<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' Noch keine deutliche Verfärbung der beiden Lackmuspapiere.

2<sup>h</sup> 39' Noch 1 ccm NH<sub>3</sub> 0,83% zugesetzt. Konzentration 0,0178%.

2<sup>h</sup> 40' Zweite Luftprobe aus dem Atmungssack entnommen.

2<sup>h</sup> 42' Erstes Thoraxpapier entfernt, zweites Thoraxpapier eingelegt.

2<sup>h</sup> 43<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' Erstes Trachealpapier entfernt, neues Trachealpapier eingelegt.

2<sup>h</sup> 44<sup>1</sup>/<sub>2</sub>' Noch 1 ccm NH<sub>3</sub> zugesetzt. Konzentration 0,0237% NH<sub>3</sub>.

2<sup>h</sup> 45' Abnahme des Blutstromes. Druck 26 mm Hg.

2<sup>h</sup> 46' Thoraxpapier anscheinend schwach verfärbt.

2<sup>h</sup> 47' Thoraxpapier deutlich blau. Die Durchblutung wird besser. Lackmuspapiere entfernt. Darauf Schluß des Versuches.



Das Blut aus dem Apparat färbt darüber gehaltenes Lackmuspapier in 5 Minuten stark blau.

Die 4 Lackmuspapiere werden nebeneinander auf weißes Papier gelegt. Das erste Trachealpapier ist nicht verfärbt, das zweite Trachealpapier ist deutlich blau. Das erste Thoraxpapier ist nicht verfärbt, das zweite Thoraxpapier zeigt einen blauen Rand.

Lungengewicht 26 g = 8,66 g pro kg. Die Lunge ist hellrot, gleichmäßig gefärbt, keine Spur Ödem, keine Spur Stauung, nirgends Emphysem.

Kohlensäuregehalt der Blasenluft: erste Probe 6,7% CO<sub>2</sub>, zweite Probe 6,3% CO<sub>2</sub>.

Tabelle V zu Versuchsreihe 4.

Versuchs-Nr.	NH <sub>3</sub> im Durchströmungsblut %	CO <sub>2</sub> -Gehalt der Atemluft %	Dauer in Min.	Blaufärbung des Lackmuspapieres		Bemerkungen
				in der Trachealkanüle	im Plethysmographen (Pleuraseite)	
42	0,0126	9,6	5	0	minimal	Schlechter Strom, Lunge 11,2 g pro kg
43	0,0172	4,6	2	0	minimal	Strom und Atmung vortrefflich,
	—	—	3	0	blau	Lunge 10,1 g pro kg
	—	—	5	minimal	blau	
44	0,0119	4,0	3	0	0	Strom und Atmung vortrefflich,
	0,0174	—	<sup>3</sup> / <sub>4</sub>	0	schwach	Lunge 7 g pro kg
	—	—	<sup>2</sup> / <sub>3</sub>	0	deutlich	
45	0,0119	6,1	3	0	blau	Anfangsstrom und Atmung gut.
	0,0174	—	3	0	0	Ödem. Lunge 26,2 g pro kg Ödemschaum alk.
46	0,0119	6,5	3	0	0	Strom und Atmung vortrefflich,
	0,0174	—	<sup>3</sup> / <sub>4</sub>	—	0	Lunge 8,6 g pro kg (siehe
	—	—	<sup>4</sup> / <sub>2</sub>	0	0	Protokoll)
	0,0237	—	2	0	schwach	
47	0,0119	6,3	3	deutlich	deutlich	
	0,0174	—	5	0	0	Atmung gut, Strom mittel,
48	0,0119	6,5	5	0	Spur	Strom und Atmung vortrefflich,
	0,0174	—	5	0 (Grenze?)	deutlich	Lunge 9 g pro kg
	0,02075	6,1	5	Grenze	blau	Strom gut, Atmung vortrefflich,
49	0,0237	—	5	blau	blau	Lunge 12,6 g pro kg
	0,02075	5,7	3	0	schwach	Strom und Atmung vortrefflich,
50	0,0237	—	3	0	blau	Strom nimmt ab, Ödem, Lunge
	0,02075	6,2	3	(Grenze?)	0	33,3 g pro kg
51	0,0237	—	3	0	(Grenze?)	Strom gut, Atmung vortrefflich,
	—	—	<sup>5</sup> / <sub>2</sub>	blau	0	Bronchitis, Lunge 14,5 g
52	0,02075	6,0	5	Grenze	0	pro kg
	0,0237	—	5	blau	stark blau	Strom und Atmung vortrefflich,
53	0,02075	6,3	3	0	schwach	Lunge 6,4 g pro kg
	0,237	—	3	schwach	blau	Strom und Atmung vortrefflich,
	—	—	5	blau	blau	Lunge 12,9 g pro kg

*Ergebnis:* Bei einem Kohlensäuregehalt der Alveolarluft von 6,7 bis 6,3% und einem Ammoniakgehalt des Durchströmungsblutes von 0,0237% färbt sich das Trachealpapier nach 3 Minuten deutlich blau, das Thoraxpapier zeigt bereits nach 2 Minuten schwach blaue Färbung. Bei einem Ammoniakgehalt von 0,0119 und 0,0174% blieben sowohl Thorax- wie Trachealpapier ungefärbt..

Das Gesamtergebnis sämtlicher Versuche ersieht man aus vorstehender Tab. V (S. 271).

Nach Atmung eines Sauerstoff-Kohlensäuregemisches von 9,6% CO<sub>2</sub> färbt das Durchblutungsblut mit einem Gehalt von 0,0126% NH<sub>3</sub> darüber gehaltenes Lackmuspapier noch blau. Bei einem Gehalt der Atmungsluft von 6,1% CO<sub>2</sub> läßt Durchströmungsblut mit 0,0119% Ammoniak noch NH<sub>3</sub> nach der Pleuraseite hin abdunsten. In sämtlichen Versuchen war also abdunstungsfähiges Ammoniak im Blute vorhanden.

Das Ergebnis der Experimente ist eindeutig. Betrachtet man zunächst die Versuche 42—48, so ergibt sich, daß bei einem Gehalte des Durchströmungsblutes zwischen 0,0119% und 0,0174% das Lackmuspapier in der Trachealkanüle stets ungefärbt bleibt. Nur in Versuch 43 war nach 5 Minuten bei 0,0172% NH<sub>3</sub> eine minimale Blaufärbung zu sehen. Vergleicht man hiermit die Versuchsreihe 2, so sieht man dort in Versuch 35 schon bei 0,015% Ammoniak nach 1½ Minuten Blaufärbung eintreten, und in Versuch 37 nach 0,0123% Ammoniak nach 2 Minuten beginnende Blaufärbung des Trachealpapieres, die nach 4 Minuten stark wird. Derartige Fälle sind in der vierten Versuchsreihe nicht vorhanden. Wir müssen also den Schluß ziehen, daß die Ammoniakausscheidung durch die Lunge durch das Vorhandensein von etwa 6% Kohlensäure in der Alveolarluft deutlich gehindert wird. Dieses wird durch die Versuche 49—53 bestätigt. Diese zeigen, daß bei einem Gehalt des Durchströmungsblutes von 0,02075% NH<sub>3</sub> in 3 Minuten das Trachealpapier ungefärbt bleibt, während nach 5 Minuten eine Grenzreaktion erfolgt. Bei einem Gehalt des Durchströmungsblutes von 0,0237% ist nach 3 Minuten in der Hälfte der Fälle noch keine Blaufärbung, in der anderen Hälfte schwache bis deutliche Blaufärbung vorhanden, während nach 5 Minuten bei dieser Konzentration das Trachealpapier stets blaugefärbt wird. Da in Versuchsreihe 2 bei einem Ammoniakgehalt von 0,021% stets nach 3 Minuten Blaufärbung vorhanden war, ergibt sich auch hieraus, daß durch die verwendeten Kohlensäurekonzentrationen in der Atemluft die Ammoniakausscheidung durch die Lunge deutlich behindert wird.

Es ist möglich, daß dieses in den ältesten Versuchen von *Magnus* eine Rolle gespielt hat. Wenn man Ammoniaklösung in die Arteria pulmonalis einspritzt und danach im Expirationsventil keinen Niederschlag in *Nesslers* Reagens bekommt, während nach dem Tode bei fortgesetzter künstlicher Atmung nach einiger Zeit die Ammoniakreaktion mit *Nesslers* Reagens deutlich wird, so könnte hierbei

das Aufhören der Kohlensäureausscheidung durch die Lunge nach dem Tode eine unterstützende Rolle spielen. Natürlich kommt außerdem als weiteres Moment noch die Zeit hinzu, denn auch in den Durchblutungsversuchen trat bei gleicher Ammoniakkonzentration im Durchströmungsblute nach 5 Minuten häufig eine Blaufärbung auf, welche nach 3 Minuten noch nicht deutlich war.

In den älteren Versuchen von *Magnus* wurden bei mittelgroßen Kaninchen wiederholte intravenöse Einzelspritzungen von 5 ccm 0,35%  $\text{NH}_3$  gemacht. Jede Injektion würde also sehr annäherungsweise den Ammoniakgehalt des Blutes um 0,017% erhöhen, wenn gar kein Übertritt in die Gewebe stattfände, ein solcher erfolgt aber natürlich zwischen den verschiedenen Einzelinjektionen. Hieraus ergibt sich, daß die Ammoniakkonzentrationen im Blute in diesen älteren Versuchen annäherungsweise von der gleichen Größenordnung sind, wie sie in den hier geschilderten Durchblutungsversuchen verwendet wurden, so daß die Ergebnisse der Durchblutungsversuche mit zur Erklärung der fehlenden Ausscheidung von Ammoniak in den damaligen Einspritzungsversuchen an Kaninchen herangezogen werden können.

Alles in allem ergibt sich, daß die quantitative Prüfung der Ammoniakausscheidung aus dem Blute durch die überlebende Lunge keine Daten ergibt, welche zu einer Annahme der Undurchgängigkeit des Lungenepithels für Ammoniak führen, und daß sich sämtliche experimentellen Ergebnisse zwanglos erklären lassen, wenn man berücksichtigt, wie groß der Absorptionskoeffizient des Ammoniaks in wäßrigen Flüssigkeiten und im Blute ist, und daß der Nachweis des Ammoniaks in der Atemluft davon abhängt, ob die Exspirationsluft bei der künstlichen Atmung mit mehr oder weniger großen Luftmengen verdünnt wird, die die Lungen überhaupt nicht passiert haben. Vermeidet man diesen Versuchsfehler, so ergibt sich, daß aus der Trachea zweifellos Ammoniak exhaliiert werden kann, und zwar schon bei einem Ammoniakgehalt des Blutes von 0,012 bis 0,015%. Enthält die Alveolarluft Kohlensäuremengen von etwa 6%, so wird die Grenze für die Ammoniakausscheidung in der Atemluft auf etwa 0,021% erhöht.

*Es zeigt sich also, daß weder für die Aufnahme des Ammoniaks aus der Atemluft, noch für die Ausscheidung des Ammoniaks aus dem Blute in die Alveolarluft, ein Widerstand durch das Alveolarepithel nachgewiesen werden kann.*

### Zusammenfassung.

1. Die  $\text{CO}_2$ -Spannung in der Alveolarluft beträgt bei der künstlich durchbluteten überlebenden, isolierten Lunge 0,8—2,1 mm Hg, ist also nur wenig höher als die der Zimmerluft (0,6 mm). Der  $\text{CO}_2$ -Gehalt des Blutes ist 2,3—8 Vol.-Proz. Diese kleinen  $\text{CO}_2$ -Mengen können die  $\text{NH}_3$ -Ausscheidung durch die *isolierte* Lunge nur wenig hindern.

2. Die Einatmung von ammoniakhaltiger Luft durch die künstlich durchblutete isolierte Lunge mit Mengen von 0,009—0,08 g (0,001 bis 0,004%)  $\text{NH}_3$  findet man bis zu 42% des zugeführten  $\text{NH}_3$  im Blute wieder (Minimum 13%).

3. Bei einem Ammoniakgehalte des Durchblutungsblutes von 0,012 bis 0,018% dunstet an der Pleuraseite der Lunge  $\text{NH}_3$  ab. Der Nachweis des Ammoniaks in der Expirationsluft hängt von den Versuchsbedingungen ab. Atmet man die Lunge durch Einblasen und hängt das Lackmuspapier vor dem Seitenrohr der Trachealkanüle auf, so wird die Ausatemungsluft stark verdünnt und der  $\text{NH}_3$ -Nachweis gelingt erst bei mehr als 0,030%  $\text{NH}_3$  im Blute. Wird dagegen das Lackmuspapier in den schädlichen Raum gebracht, so wird die  $\text{NH}_3$ -Ausscheidung schon bei 0,012, 0,015, 0,018, 0,021% im Blute nachweisbar, also bei der gleichen Konzentration, bei denen Ammoniak nach der Pleuraseite abdunstet.

4. Bei einem Gehalt der Alveolarluft von 5—6%  $\text{CO}_2$  wird die Ammoniakausscheidung durch die Lunge deutlich gehindert, so daß bei weniger als 0,02%  $\text{NH}_3$  im Blute innerhalb der Versuchszeiten kein Ammoniak in der Ausatemungsluft erscheint, auch wenn die Versuchsbedingungen möglichst günstig gewählt werden.

5. Das Alveolarepithel ist für Ammoniak in beiden Richtungen durchgängig.

(Aus dem Physiologischen Institut zu Freiburg i. Br.)

## Über die Wirkungsweise der Herznerven.

Von

**Dr. Helmuth Bohnenkamp,**

z. Zt. Assistent der Medizinischen Klinik zu Heidelberg.

Mit 21 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. Mai 1922.)

Die neuerlichen Erfahrungen am Skelettmuskel und die daran geknüpften Überlegungen lassen erkennen, daß die durch einen einmaligen Reiz ausgelöste Zusammenziehung, die „Zuckung“, aus einer Anzahl von Teilvorgängen zusammengesetzt ist. Für das Herz wird dies in noch höherem Grade gelten, da hier die automatische Reizerzeugung, mögen wir sie dem Muskelgewebe selbst oder nervösen Elementen zuschreiben, als etwas Weiteres hinzukommt. Damit ist auch für eine Theorie der Herzinnervation Weg und Aufgabe vorgezeichnet. Es wird bei allen Formen nervöser Beeinflussung zu ermitteln sein, welche *Teilvorgänge* jedesmal Angriffspunkte der Wirkung sind und *wie* sie beeinflusst werden. Solange uns aber die Teilvorgänge nur sehr unvollkommen bekannt sind, ist es für die Forschung jedenfalls der richtige Weg, die Formen, in denen die Herztätigkeit beeinflusst werden kann, möglichst vollständig kennen zu lernen und in einer *rein beschreibenden Weise* darzustellen, wie dies *Engelmann* mit seiner bekannten Unterscheidung von vier Hauptarten der Wirkung getan hat. Es versteht sich jedoch, daß die Modifikationen, deren der Herzschlag fähig ist, und die er auch tatsächlich unter dem Einfluß der Herznerven erfährt, durch die Unterscheidung jener vier Erfolgsarten nicht wirklich erschöpfend angegeben werden können. Tatsächlich sind in der grundlegenden Darstellung *Engelmanns* die greifbarsten, leichtesten sichtbaren, vielleicht die wichtigsten Änderungen herausgehoben. Es können aber auch daneben noch manche andere ins Auge gefaßt werden. Zu diesen gehört namentlich der *zeitliche Verlauf der Zusammenziehung*. Seine Abhängigkeit von der Innervation ist bis jetzt verhältnismäßig wenig untersucht worden. Und doch kommt gerade diesem Gegenstand im Hinblick auf unsere Vorstellungen von der Natur des Zuckungsverlaufes im Skelettmuskel ein erhöhtes Interesse zu. Der sichtbare Verlauf der Zuckung wird nämlich, wie es scheint,

wesentlich durch das Zusammenwirken von zwei Vorgängen bestimmt, die sich aneinanderschließen, zum Teil auch wohl noch ineinandergreifen, und die im Anschluß an Betrachtungen, die uns seit *Fick* geläufig sind, als zusammenziehende und erschlassende, kontrahierende und distrahierende nach der Benennung *Ecksteins*<sup>1)</sup> bezeichnet werden können. Naturgemäß erhebt sich, wenn wir eine Änderung des Kontraktionsablaufes beobachten, die Frage, wie daran Änderungen des einen und anderen jener beiden Vorgänge beteiligt sind. Auch wird sich fragen, ob es gelingt, die Innervationen in dem Sinne des Genaueren zu deuten, daß wir uns ein Bild davon machen, ob jene Vorgänge beide oder nur einer von ihnen, gegebenenfalls welcher, modifiziert wird.

Wie schon bemerkt, liegen über die durch nervöse Einwirkungen hervorzurufenden Veränderungen der Kontraktionsform des Herzens einige, jedoch nicht gerade viele und nicht erschöpfende Beobachtungen vor. An die Spitze ist hier eine Arbeit von *Baxt*<sup>2)</sup> über die Verkürzung der Systolenzeiten durch den *N. accelerans cordis* zu stellen. *Baxt* ging von der Tatsache aus, daß beim Säuger (Hund) durch Reizung des *Accelerans* leicht Frequenzen des Herzschlages erreicht werden, bei denen die Dauer der ganzen Herzperiode kleiner ist, als die Dauer der Systole allein bei normaler Frequenz. Er wies demgemäß darauf hin, daß durch die Reizung des *Accelerans* offenbar nicht nur das Tempo der Reizentwicklung, sondern auch der zeitliche Ablauf der einzelnen Herzkontraktion geändert wird. Eine genauere Verfolgung der Tatsache wurde nach einer direkt kardiographischen Methode unternommen. Und zwar wurde auf das bloßgelegte Herz des Hundes ein Stäbchen gesetzt, das durch eine passende Übertragung mit einem Registrierapparat in Verbindung gesetzt wurde. Wir wissen seit langer Zeit, daß ein solches Verfahren nicht geeignet ist, uns von dem wirklichen Kontraktionsablauf ein treffendes Bild zu geben. Auch ist bekannt, daß dieses Ziel für das Säugerherz, wenn überhaupt, jedenfalls nur mit Überwindung großer Schwierigkeiten zu erreichen ist. Darin mag der Grund liegen, daß weitere, unsern Gegenstand betreffende Untersuchungen am Säugerherzen, so weit mir bekannt, nicht angestellt worden sind. Für das Kaltblüter- insbesondere das Froschherz stehen dagegen mancherlei Verfahrensweisen zur Verfügung, mittels deren der zeitliche Verlauf der Tätigkeit mit befriedigender Genauigkeit und ohne Schwierigkeit zur Anschauung gebracht werden kann. Hier ist dann die Frage des Kontraktionsablaufes und seiner nervösen Be-

<sup>1)</sup> *Eckstein, A.*, Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur auf den Ablauf der Kontraktion im Muskel. *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **183**. 1920.

<sup>2)</sup> *Baxt, N.*, Die Verkürzung der Systolenzeiten durch den *N. accelerans cordis*. *Du Bois Reymond Arch.* 1878, S. 122ff.

einflussung mehrfach ins Auge gefaßt worden. Hier ist zunächst die durch ihre Namengebung so bekannt gewordene Arbeit *Engelmanns*<sup>1)</sup> zu nennen. In seinen Kurven findet sich mehrfach verflachtes Ansteigen.

Auch steilerer Anstieg als bei der gewöhnlichen Kontraktion vor dem Reiz ist vereinzelt zu beobachten. In einem Falle (Abb. 21, S. 339 seiner Arbeit) ist er geneigt, „das sehr verflachte Ansteigen und den gedehnten Verlauf auf eine Verzögerung der Leitung innerhalb des Ve-Si-Gebietes zurückzuführen“, bei Abb. 23 (S. 340) sagt er: „Das schnellere Ansteigen der Ventrikelsystole zum Gipfel erklärt sich aus der infolge der A-Lähmung geringeren Füllung der Kammer mit Blut.“

Kurze aber nicht besonders bedeutsame Erwähnung einer Kontraktionsänderung bei Vaguserregung findet sich auch bei *Eckard*<sup>2)</sup>. Eingehender befaßt sich *O. Frank*<sup>3)</sup> mit der Frage nach der Form der Kontraktionskurve des vaguserregten Herzens und kommt zu dem Schlusse, daß beim Einfall des Reizes in der Diastole einige Zeit vor Beginn der Systole die Kurvenform so verändert wird, „daß die Zusammenziehung etwas langsamer (besonders im späteren Teil) erfolgt, und daß die Erschlaffung etwas früher beginnt (Verkürzung der Gipfelzeit) und schneller von statten geht als sonst. Dabei wird die Kurve (sowohl bei der isotonischen als bei der isometrischen Zuckung) spitzer und kann eine geringere Höhe erreichen als sonst... Diese Veränderungen der ersten nach dem Reiz erfolgten Zuckung des Kammermuskels sind sehr regelmäßig.“ Zuletzt hat *F. B. Hofmann*<sup>4)</sup> diese Frage zum ausdrücklichen Gegenstand einer Untersuchung gemacht. Er zog seine Schlüsse jedoch wesentlich nicht aus Beobachtungen am spontan schlagenden Herzen, sondern am künstlich stillgelegten Scheidewandnervenpräparat, das er in beliebigen Abständen reizen und auch durch Vaguserregung in einen „hypodynamen“ Zustand versetzen konnte. Auch er kommt übereinstimmend mit *O. Frank* zu dem Ergebnis eines je nach dem Grad der Vaguserregung verflachten Anstieges und eines verfrühten Abbrechens der Kontraktion, so daß die Kurven spitzer und die Kontraktionsdauern verkürzt erscheinen. Als das Wesentliche faßt er zusammen:

„Die Verkürzung der Kontraktionsdauer ist also für den hypodynamen Zustand genau ebenso charakteristisch wie die Abschwächung der Kontraktion“ (S. 164). „Bei negativ inotroper (abschwächender) Vaguswirkung verändert sich

<sup>1)</sup> *Engelmann, Th. W.*, Über die Wirkungen der Nerven auf das Herz. *Engelmanns Arch.* 1900, S. 315.

<sup>2)</sup> *Eckard, C.*, Erregung des durch Vagusreizung zum Stillstand gebrachten Herzens 1883. *Beitr. z. Anat. u. Physiol.* **10**, 22.

<sup>3)</sup> *Frank, O.*, Die Wirkung von Digitalis (Helleborein) auf das Herz. *Sitzungsber. d. Ges. für Morph. u. Physiol. in München* 1897, Heft 2.

<sup>4)</sup> *Hofmann, F. B.*, Über die Änderungen des Kontraktionsablaufes am Ventrikel und Vorhofe des Froschherzens bei Frequenzänderung und im hypodynamen Zustande. *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **84**, 130. 1901.

die Kontraktionsform ganz so wie bei Frequenzvermehrung unterhalb des Optimums des Reizintervalls. Negativ inotrope Vaguswirkung und Frequenzverminderung bis zum Optimum wirken also antagonistisch auf den Kontraktionsablauf ein und können sich gegenseitig in ihrer Wirkung kompensieren. (Maskierung des hypodynamen Zustandes)“.

Über die Änderungen der Kontraktionsform des Kaltblüterherzens durch *fördernde* Innervation liegen bis jetzt gar keine Angaben vor. Dies hat seinen Grund wohl unzweifelhaft darin, daß diese Reizerfolge überhaupt nur schwer und mehr oder weniger unsicher zu erhalten sind. Zwar, daß das Kaltblüterherz auch eine fördernde Innervation besitzt, ist seit langem außer Zweifel gestellt. *Heidenhain*<sup>1)</sup> zeigte, daß unter verschiedenen Bedingungen durch elektrische und chemische Reizung mitunter Beschleunigung und Verstärkung der Herztätigkeit erzielt wird. Vorher hatte schon *Schmiedeberg*<sup>2)</sup> bei Reizung des Vagusstammes nach Einwirkung von Atropin und Nikotin Acceleranswirkungen gesehen. Auch *Gaskell*<sup>3)</sup> und später *Löwit*<sup>4)</sup> haben nach Anwendung verschiedener chemischer Mittel, letzterer auch in bestimmten Stadien der Austrocknung den beschleunigenden Einfluß von Vagusreizungen beschrieben. *Gaskell* war es, der den anatomischen Verlauf der betreffenden Herznerven am Frosch untersuchte; er fand, daß sie vom 1. bis 3. Ganglion des Sympathicusstranges entspringen und gleich in den Vagusstamm eintreten. Um die Erfolge der fördernden Innervation zu erhalten, boten sich nach den schon länger bekannten Tatsachen drei Wege. Man kann ähnlich, wie es bei den klassischen Untersuchungen am Säugerherzen geschehen ist, die accelerierenden Fasern an einer Stelle aufsuchen, wo sie noch nicht in den Vagusstamm eingetreten sind. Man kann ferner durch chemische (pharmakologische) Einwirkungen die Hemmungserfolge ausschalten. Endlich kann man die Reizung des Vagusstammes in der Nähe des Herzens und ohne irgendwelche besonderen Kautelen vornehmen. In diesem Falle erhält man zwar, ganz wie es für das Säugerherz durch die bekannten Untersuchungen von *Baxt* festgestellt ist, fast stets zunächst Hemmungs-

1) *Heidenhain, R.*, Untersuchungen über den Einfluß des Nervus vagus auf die Herztätigkeit. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **27**, 383. 1882.

2) *Schmiedeberg*, Untersuchungen über einige Giftwirkungen am Froschherzen. Ber. d. kgl. sächs. Ges. d. Wiss. 1870, S. 130.

3) *Gaskell, W. H.*, On the Rythm of the Heart of the Frog and on the nature of the Action of the Vagus Nerve. Proceedings of the Royal Society of London. Vol. **33**, S. 199. 1881/82; On the Rythm of the Heart of the Frog and on the nature of the Action of the Vagus Nerve. Philosophical Transactions **173**, 3. 4. 1882. S. 993 (mit Kurven).

4) *Löwit, M.*, Beitrag zur Kenntnis der Innervation des Herzens. III. Mitt. Die Deutung einiger Giftwirkungen am Froschherzen. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **18**, 312; IV. Mitt. Über Hemmung und Beschleunigung der Herztätigkeit durch elektrische Reizung des N. vagus. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **29**, 469.



wirkungen. Jedoch scheinen auch hier die accelerierenden Wirkungen die hemmenden zu überdauern, so daß sie, zunächst verdeckt, häufig in einem etwas späteren Stadium nach der Reizung beobachtet werden können. Von diesen Verfahrungsweisen ist die letztgenannte aus selbstverständlichen Gründen unvollkommen. Denn für die Beobachtung der fördernden Nervenwirkungen ist es mindestens eine störende Komplikation, wenn gleichzeitig hemmende Wirkungen ins Spiel kommen. Dagegen scheint das erste Verfahren, Reizung der accelerierenden Fasern an hoher Stelle, vor dem Eintritt in den Vagusstamm auf große technische Schwierigkeiten zu stoßen. So erwähnt *v. Skramlik*<sup>1)</sup>, daß es ihm niemals gelungen sei, auf diese Weise positive Erfolge zu erzielen. Ich selbst habe sie auf diese Weise nur in geringem Grade erzielen können. Daß man endlich bei Reizung des Vagusstammes nach Atropinisierung zwar beschleunigende Erfolge erhält, aber keineswegs regelmäßige und oft nur sehr geringfügige, ist zwar in der Literatur nicht besonders hervorgehoben, dürfte aber bekannt sein, und mag wohl damit zusammenhängen, daß jene Gifte nicht gerade ganz ausschließlich den Hemmungsapparat ausschalten, sondern daneben auch noch andere Veränderungen hervorrufen. Für die Untersuchung der Acceleranswirkung am Froschherzen schienen sich nun günstigere Aussichten zu bieten, nachdem *v. Skramlik* gefunden hatte, daß man, wenn nicht immer, so doch häufig durch eine vorsichtige Zerlegung des Vagusstammes (nahe am Herzen) einzelne feine Fädchen isolieren kann, durch deren Reizung Beschleunigungen des Herzschlages in höherem Betrage als nach den andern genannten Verfahrungsweisen und ohne eine bemerkbare Einmischung hemmender Wirkungen erzielt werden können. Gerade hierin lag auch für mich der Anstoß, diese Untersuchungen in Angriff zu nehmen, da ich gerade in diesem Punkte durch günstigere Untersuchungsbedingungen weiter als meine Vorgänger zu gelangen hoffen durfte. Selbstverständlich erschien es jedoch geboten, die Aufgabe ganz allgemein zu stellen und die Änderungen der Kontraktionsform nicht allein durch die fördernden, sondern auch durch die hemmenden Innervationen systematisch zu untersuchen.

Verfahrungsweise: Bei der Präparation der Herznerven ging ich zur Sonderung gleichartiger Fasersysteme im Vagusstamm unter einer linear zehnfach vergrößern- den Binokularlupe in der von *v. Skramlik* geschilderten Weise vor. Es gelingt dabei den Ramus cardiacus N. vagi nicht nur in 2 oder 3, sondern gelegentlich in 8—10 Fäserchen aufzusplitteln, die erregte Hemmung oder Beschleunigung hervorrufen. Bei der Präparation der Nervenfasern war eine fortdauernde Betropfung, bzw. Betupfung mit Ringerlösung zur Erhaltung der Leitfähigkeit der abgespaltenen Nervenfibrillenbündel unerlässlich. Um bessere Übersicht über das Operationsgebiet zu erhalten, war es oft notwendig, die gleichseitige Art. carotis nahe ihrer

<sup>1)</sup> *v. Skramlik*, Über den beschleunigenden Nerven des Froschherzens. Zentralbl. f. Physiol. **34**, Nr. 9.

Verzweigung in die Art. cutanea magna und Art. pulmonalis zu durchschneiden, den distalen Teil umzuklappen und so bequem Einblick in das Gebiet der Lungenwurzel zu gewinnen. — Gereizt wurde mit feinen Platinelektroden, die an die Sekundärspule eines gewöhnlichen Du Bois Reymondschen Schlitteninduktoriums angeschlossen waren. Aufgezeichnet wurde die Tätigkeit von Vorhof und Kammer zugleich, mittels der Suspensionsmethode nach *Gaskell-Engelmann* mit ganz geringfügig durch je ein angeklebtes Wachsstück belasteten Strohalmhebeln, die linear zehnfach vergrößert mit möglichst geringer Reibung über die berußten Trommeln *Baltzarscher* Kymographien glitten und die Zusammenziehung und Erschlaffung der Herzteile möglichst getreu verzeichneten. Bei den *Baltzar*schen Kymographien wurden meist große Umlaufgeschwindigkeiten angewandt, so daß in der Mehrzahl der Versuche eine Geschwindigkeit von ca. 1 cm pro Sekunde innegehalten wurde. Die Versuche erstrecken sich von Oktober 1920 bis zum März 1921, zusammen sind es 64. Fast durchweg wurden mittelgroße und große Exemplare von *Rana esculenta*, nur vereinzelt von *Rana temporaria* gewählt, die meist 2 Tage vorher bei Zimmertemperatur gehalten wurden. Während der Versuchsdauer wurde der Wärmegrad der Umgebung genau bestimmt.

Um die Änderungen der Kontraktionsform zur unmittelbaren Anschauung zu bringen, wurden sorgfältig über einer durchleuchteten Glasplatte Pausen von Kontraktionskurven nach der Erregung der Herznerven über solchen vor der Erregung derselben angefertigt. Dabei war zu berücksichtigen, daß in den Fällen, wo eine größere Erschlaffung des Herzens als Reizfolge des Vagus eintrat und die Fußpunkte der Kurven absanken, zum Zwecke der Pausung immer genau die Fußpunkte aufeinander gelegt wurden, dabei aber jede Neigung zur Horizontalen vermieden wurde. Zudem wurden nur Kurven mit keinem oder nur sehr geringem Absinken der Fußpunkte gewählt. Das Entsprechende gilt für die Pausung der Kurven bei Erregung d. n. accelerans.

Was nun die *hemmenden Vaguswirkungen* anlangt, so versteht sich, daß es sich hier in erster Linie um eine genauere Prüfung der sogenannten inotropen Wirkungen handelt. Denn es liegt eigentlich schon in dem Begriff der chronotropen Wirkung, so wie er von *Engelmann* aufgestellt wurde, daß es sich dabei lediglich um eine Verminderung der in die Zeiteinheit fallenden Anzahl von Kontraktionen, ohne Änderung der einzelnen Tätigkeit handeln soll. Doch mag hervorgehoben werden, was übrigens ja auch jedem Untersucher bekannt ist, daß man oft genug durch Vagusreizung solche rein chronotropen Wirkungen erhält, Verminderungen der Frequenz ohne bemerkbare Modifikation der einzelnen Zusammenziehung. — Die dem Vagus zukommenden „negativ inotropen“ Wirkungen bestehen nun nach der *Engelmann*schen Definition darin, daß der Umfang der Kontraktion verkleinert oder die Gipfelhöhe verringert wird. Unter den vorhin dargelegten theoretischen Gesichtspunkten erschien als die vornehmlich interessierende Frage die, ob hierbei es sich *um eine Verminderung, beziehungsweise auch Verzögerung der kontrahierenden Vorgänge oder um eine Verstärkung und Beschleunigung der erschlaffenden Vorgänge oder um beides handelt.*

Die Beantwortung dieser Fragen wird dadurch erschwert, daß die Modifikationen des Kontraktionsverlaufes sich keineswegs allemal in genau übereinstimmender Weise darstellen. Sie weisen vielmehr

beträchtliche Unterschiede auf, deren Gründe offenbar in individuellen Verschiedenheiten der einzelnen Herzen gesucht werden müssen, wie ja auch ähnliche individuelle Unterschiede es mit sich bringen, daß überhaupt inotrope Wirkungen an manchem Herzen leicht und in beträchtlichem Ausmaß erhalten werden, an anderen ganz oder fast ganz fehlen.

Immerhin läßt sich mit Sicherheit behaupten, daß jedenfalls die zweite der vorhin erwähnten Möglichkeiten verwirklicht ist, die Vagusreizung eine *Begünstigung der Erschlaffungsvorgänge* mit sich bringt. Es geht dies einmal daraus hervor, daß ganz schwach, eben am Kontraktionsablauf bemerkbare Vagusreizerfolge immer, und zwar ausnahmslos sich in der Weise darstellen, daß wir zwar noch keine Verringerung der Gipfelhöhe, aber eine deutliche Verfrühung des diastolischen Abstiegs beobachten. Es erscheint diese Wahrnehmung deswegen von Wichtigkeit, weil es sich hier offenbar um den Beginn einer Wirkungsweise handelt, um einen ersten Vorgang bei der Muskelbeeinflussung. Es erhellt dies die Tatsache, daß in Fällen dieser Art mit der Verstärkung der Reize nach und nach die neg. inotropen Wirkungen zur Beobachtung gelangen. Ein Beleg für dies angegebene Verhalten eines verfrühten Abstiegs ohne Erniedrigung der Gipfelhöhe gibt die folgende Abb. 1.

Ferner zeigt sich, daß man, wenn auch keineswegs regelmäßig, doch häufig, sogar eine recht ausgesprochene Verminderung der Gipfelhöhe in der Form zu sehen bekommt, daß der anfängliche Anstieg keinerlei Veränderungen, namentlich keine Abflachung erkennen läßt. Die Verminderung der Gipfelhöhe kommt ausschließlich so zustande, daß die Zuckung früher abgebrochen wird. Als Beispiel dieses Verhaltens teile ich die Abb. 2a, b, c mit.



Abb. 1. Vagusreiz bei R. A. 6 cm. An der Kammer ist nach der Vagusreizung der verfrühte Abstieg ohne Verminderung der Gipfelhöhe erkennbar. Die Gipfel erscheinen steiler.

In Abb. 2 a, b, c liegen Beispiele von verminderten Hubhöhen mit vorzeitigem Beginn des Kurvenabstieges vor. Der aufsteigende Kurvenast erscheint gar nicht oder kaum merklich verändert, während deutlich der Beginn der Erschlaffung nach der Reizung immer früher zur Beobachtung kommt, sowohl am Vorhof wie an der Kammer. Dabei tritt die Erschlaffung ersichtlich um so früher ein, je stärker die neg. inotrope Wirkung zur Geltung kommt, also nach Vagusreizung mit inotropem Erfolg setzt die diastolische Erschlaffung verfrüht im Verhältnis zur ganzen Herzperiodendauer ein, so daß die Systole verkürzt sein muß.

Tritt hier die Begünstigung des Erschlaffungsvorganges ganz rein und demgemäß einwandfrei zutage, so ist die gleiche Tatsache doch

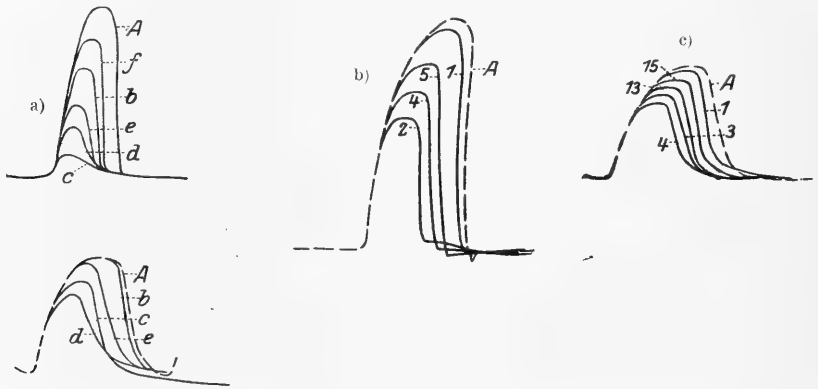


Abb. 2 a—c. a) Vers. 15 A vom 6. XI. 20. Reizung des linken N. vagus bei R. A. 6,3 cm. Reizdauer 0,6 Sek., oben Vorhof. A = Letzte Kontraktion vor der Reizung. b=1, c=2, d=3, e=4, f=8. Kontraktion nach der Reizung. — Unten Kammer. A, b, c, d wie oben, e=7. Kontraktion nach der Reizung. b) Vers. 25 vom 27. XI. 20. R. Vagusast gereizt bei R. A. 8 cm. A = Letzte Kontraktion vor der Reizung. 1, 2, 4, 5 = 1., 2., 4., 5. Kontraktion mit Reizbeginn (Vorhof). c) Vers. 35 A. vom 28. XII. 20. L. Ram. card. n. vagi gereizt bei R. A. 1 cm (Kammer). A = 1, 3, 4, 13, 15, so wie bei b).

auch vielfach in etwas anderer Form nicht minder deutlich erkennbar. Hier ist namentlich zu erwähnen, daß häufig unter dem Einfluß der Vagusreizung der absinkende Teil der Zuckung besonders scharf und steil einsetzt, so daß die Kurve nach einem annähernd plateauartigen Gipfel wie plötzlich abgebrochen erscheint. Zum Beleg dient das folgende Mechanogramm 3.

Nicht ganz so einfach ist die Frage zu beantworten, ob die inotropen Vaguswirkungen auf den eben besprochenen Umstand, die Begünstigung erschlaffender Vorgänge *allein* zurückgeführt werden können, oder ob daneben auch einer der anderen oben erwähnten möglichen Erfolge, eine Verminderung der kontrahierenden Vorgänge, angenommen werden muß. Wir werden von einer solchen vor allem eine Verminderung

derjenigen Steilheit zu erwarten haben, mit der die vom Herzen gezeichnete Kurve ansteigt. Da es für die folgenden Besprechungen wünschenswert ist, auch für diese Veränderung eine kurze Bezeichnung

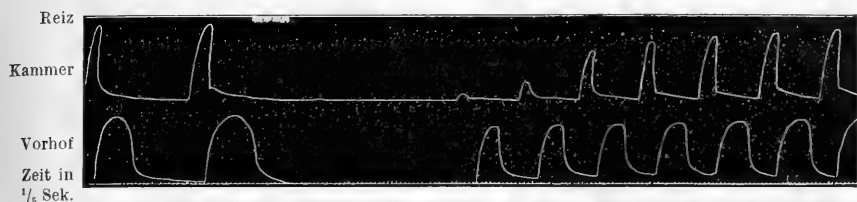


Abb. 3 Vers. 48 vom 29. I. 20. Reizung einer Faser aus dem r. N. vagus bei R. A. 8,5 cm. An der Kammer brechen nach der Reizung beim Beginn der Diastole die Kurven steiler als vorher ab. Verkleinert auf  $\frac{1}{4}$ .

festzulegen, so will ich diese Wirkung eine *klinotrope*<sup>1)</sup> nennen, wobei in Analogie mit *Engelmanns* Bezeichnungen die Vermehrung bzw. Verminderung der Anstiegssteilheit als positiv oder neg. klinotrope Wirkung zu benennen sein wird.

Eine neg. klinotrope Wirkung wird nun zwar, wie schon gesagt, in einzelnen Fällen vermißt. In den meisten Fällen ist sie jedoch in ausgespro-

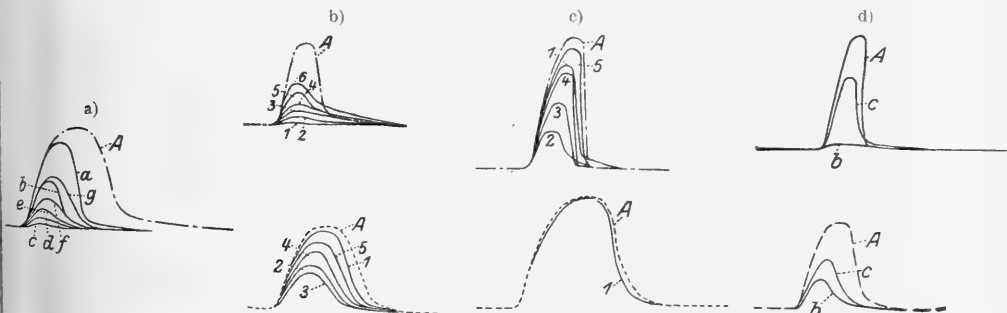


Abb. 4 a—d. a) Vers. 8 vom 28. X. 20. Reizung des rechten Vagus bei R. A. 3,5 cm. Reizdauer 1,34 Sek. *a* = Kontraktion vor der Reizung. *b* = 1., *c* = 2., *d* = 3., *e* = 4., *f* = 5., *g* = 9. Kontraktion nach Reizbeginn. *A* = Vorhof. Kontraktion nach Kühlung der Venen dicht beim Sinus mit spitzen Thermoden, die von 6° C kalten Wasser durchflossen waren. Umgebungstemperatur 17° C. b) Vers. 13 A vom 2. XI. 1920. Reizung des rechten Vagus bei R. A. 5,2 cm, Reizdauer 1,7 Sek. Oben Vorhof: *A* = Kontraktion vor der Reizung, 1, 2, 3, 4, 5 und 6 bezeichnen die entsprechenden Kontraktionen nach Reizbeginn; unten Kammer. Bezeichnung s. oben. c) Vers. 17 C vom 12. XI. 1920. Reizung des linken Vagus bei R. A. 5 cm, Reizdauer 1,2 Sek. Oben Vorhof, unten Kammer. Bezeichnung wie bei 4 b. — d) Vers. 39 C1 vom 6. I. 1921. Reizung einer ausgesonderten Faser vom linken N. vagus (ram. cardiac) bei R. A. 9,4 cm. Reizdauer 2,73 Sek. Oben Vorhof. *A* = letzte Kontraktion vor dem Reiz, *b* = 1., *c* = 3. Kontraktion nach dem Reiz, unten Kammer. *A* wie oben, *b* = 2., *c* = 3. Kontraktion nach dem Reizbeginn.

chener Weise vorhanden. Als Beleg seien hier die Kurven 4a, b, c, d mitgeteilt, in denen die Verlangsamung des Anstieges deutlich erkennbar ist.

<sup>1)</sup> Wenn mit dieser Bezeichnung die ohnehin schon reichhaltige Terminologie der Herztätigkeit um eine weitere Bezeichnung vermehrt wird, so wird das vielleicht nicht sehr glücklich erscheinen. Es kommt noch dazu, daß die klinotropen Wir-

Die Kurve, Abb. 5, zeigt besonders für die Kammerkontraktionen die negative klinotrope Wirkung.

Ein vollständigeres Bild von den Änderungen der Anstiegssteilheiten durch hemmende Vaguswirkung geben die folgenden Tabellen.

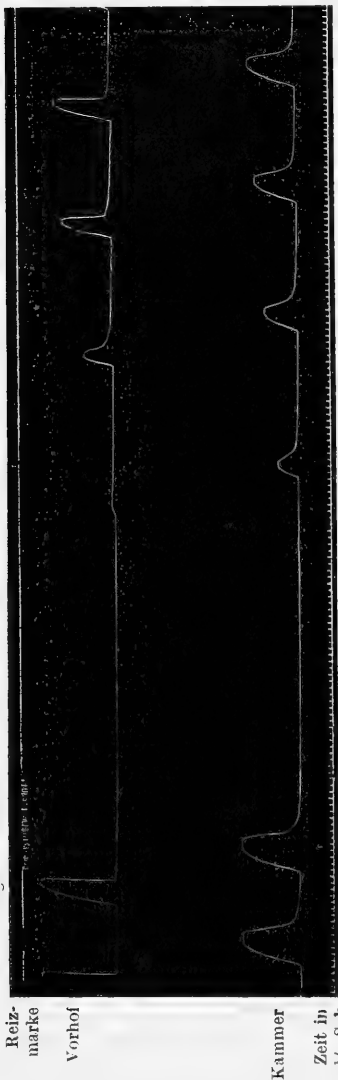


Abb. 5. Vers. 39 (6. I. 1921). An den negativ inotropen Systolen nach der Reizung erkennt man bei der Kammer die negativ klinotrope Anstiegswirkung (Verkleinerung auf  $\frac{1}{3}$ ).

Zur zahlenmäßigen Darstellung der gefundenen Verhältnisse wurde die Bestimmung der Steilheit der Kurve durch Ausmessung des Winkels vorgenommen, den die an steilster Stelle an die Kurve gelegte Tangente mit der Grundlinie bildet. Dabei wird die Tangente oft schon vom Anfang des aufsteigenden Kurvenarmes hinreichend genau gebildet. Zweckmäßig wird dabei die Steilheit wie bei der Wegeberechnung in % Steigung dargestellt, wenn die systolische Steigung vor der Reizung jeweils gleich 100% gesetzt wird. Die Winkel wurden durch Ablesung des tg. des Steigungswinkels bestimmt, und wegen der Fehlerbreite die Bestimmungen nur in ganzen ° angegeben.

Zur Erläuterung der Tabelle sei gesagt, daß die Zahlen im 3. Stab unter Kontraktionen angeben, bei der wievielten Kontraktion nach Reizbeginn die Veränderung der Anstiegswinkel in die Erscheinung tritt. Man hätte statt dessen ebenso die Zeit nach dem Reizbeginn bestimmen können, bei der die klinotrope Wirkung jedesmal beobachtet wird. Doch erschien die obige Angabe übersichtlicher.

kungen ja nichts Unabhängiges darstellen, sondern mit den inotropen in engstem Zusammenhang stehen. Indessen ist zu beachten, daß auch die von *Engelmann* festgelegten Wirkungen wohl schwerlich ganz voneinander unabhängig sind, sondern in mancherlei Weise zusammenhängen dürften. Es handelt sich eben, wie schon bemerkt, um Bezeichnungen, die zunächst ohne jede theoretische Deutung in rein beschreibendem Sinne zu nehmen sind. Wie sehr solche Benennungen Bedürfnis sind, erhellt aus dem umfangreichen Gebrauch, der von

der *Engelmann*schen Nomenklatur gemacht wird. In gleichem Sinne scheint mir auch der Wunsch nach einer kurzen Bezeichnung für die *Steilheiten*, d. h. für die nach der Zeit genommenen Differentialquotienten von Muskelzuständen berechtigt und notwendig.

Tabelle I.

Versuch	Nerv	Kontraktion nach Beginn der Reizung	Steilster Anstiegswinkel				Differenz in °	
			Vorhof (abgerundet)		Kammer (abgerundet)		Vor- hof	Kam- mer
			in °	in %	in °	in %		
2 A R. A. 10,0 cm Reizdauer 2,2 Sek.	Linker Vagus	Vor d. Reizung	82	100				
		Nach d. Reizung						
		1	60	74			— 22	
		2	7	8!			— 75	
		3	18	22			— 64	
		4	48	59			— 34	
		5	70	85			— 12	
6	76	92			— 6			
7	79	97			— 3			
8 A R. A. 3,5 cm Reizdauer 1,4 Sek.	Rechter Vagus	Vor d. Reizung	79	100				
		Nach d. Reizung						
		1	77	98			— 2	
		2	10	13!			— 69	
		3	40	51			— 39	
		4	51	54			— 28	
		5	55	69			— 24	
		6	64	81			— 15	
		7	69	87			— 10	
		8	74	93			— 5	
9	76	96			— 3			
10	78	98			— 1			
13 A R. A. 5,2 cm Reizdauer 1,7 Sek.	Rechter Vagus	Vor d. Reizung	82	100	76	100		
		Nach d. Reizung						
		1	3	4	74	98	— 79	— 2
		2	12	14	68	89	— 70	— 8
		3	23	28	62	82	— 59	— 14
		4	54	66	68	89	— 28	— 8
		5	57	69	70	93	— 25	— 6
		6	64	78	73	96	— 18	— 3
7	68	83			— 14			
8	70	85			— 12			
39 C R. A. 9,4 cm Reizdauer 2,7 Sek.	Linker Vagus	Vor d. Reizung	84	100	75	100		
		Nach d. Reizung						
		1	26	31	72	96	— 58	— 3
		2	76	91	59	79	— 8	— 16
		3	76	91	64	85	— 8	— 11
4	76	91	68	91	— 8	— 7		
5	77	93			— 7			

Von besonderem Interesse ist es, festzustellen, wieweit die ino- und klinotropen Wirkungen im Zusammenhang stehen. Schon die eben angeführten Tatsachen lehren, daß dieser Zusammenhang wohl sicherlich vorhanden, aber anscheinend kein ganz fester ist. Um dies noch

deutlicher hervortreten zu lassen, habe ich für eine größere Zahl unter dem Einfluß der Vagusreizung stehender Herzschläge die beiden Wirkungen gemessen und in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle II<sup>1)</sup>.

Ver- such	Kon- traktion nach Reiz- beginn	Inotrope Wirkung in %		Klinotrope Wirkung in %		Gipfelzeit in %	
		Vorhof	Kammer	Vorhof	Kammer	Vorhof	Kammer
14 A	1		100,0		100		85,5
13 A	1	3,6	100,0	4	98	27,3	89,5
	2	9,1	54,5	14	89	37,8	64,2
	3	18,2	43,7	28	82	51,1	62,8
	4	24,5	54,5	66	89	77,5	66,7
	5	36,3	63,7	69	93	82,3	75,6
	6	44,6	69,0	78	96	84,5	77,0
16 C	1	100,0	100,0	98	98,7	90,9	92,3
	2	9,15	76,7	45	94	37,8	80,3
	3	36,6	82,8	91	95	57,5	88,2
	4	59,2	90,5	93	96	69,5	98,1
	5	70,0	96,0	95	99	78,8	100,0
15 A	1		100,0		99,5		91,0
	2		77,5		91		72,2
	3		90,0		92		73,3
	4		92,0		95		77,7
	5		96,7		97		83,4
39 C	1	6,5	35,3	31	79	34,5	49,2
	2	39,2	55,5	91	85	48,3	69,5
	3	65,5	67,3	91	91	67,2	72,5
	4	75,2	79,8	91	93	75,8	84,0
	5	81,0	84,0	93	94	79,3	87,0
47 B	1		90,5		97		53,4
	2		60,0		94		40,0
	3		65,0		95		46,7
	4		75,0		95		54,6
	5		95,0		99		86,5
26 A	1	87,4	96,6	98	99	78,7	99,1
	2	31,2	96,6	96	99	44,3	97,0
	3	40,0	95,7	97	97	48,7	93,1
	4	51,5	97,8	98	100	52,2	98,5
	5	65,6		99		62,0	
63 A	1	34,8	82,2	90	96	59,0	65,0
	2	33,8	97,0	89	100	62,3	75,0
	3	47,4	100,0	92	100	73,8	89,3
	4	52,5	103,5	95	100	75,4	100,0
	5	60,0		95		78,7	

<sup>1)</sup> Erläuterung s. folg. Seite.



Zur Erläuterung der Tabelle sei gesagt, daß die Gipfelhöhe, der steilste Anstiegswinkel und die Gipfelzeit vor dem Reizbeginn des Vagus jeweils = 100% gesetzt wurden und nun die entsprechenden Verhältnisse nach dem Reizbeginn darauf bezogen wurden. War z. B. die Gipfelhöhe vor der Reizung 20 mm = 100% und nach dem Reizbeginn bei der ersten Kontraktion 15 mm, so ist die inotrope Wirkung = 75% gesetzt. In einem 3. Stabe sind noch die Gipfelzeiten angegeben, jene Zeiten, die verstreichen vom Beginn einer systolischen Kurvenerhebung bis zu ihrem Höchstpunkt, weil allein die Veränderung dieser Zeitabschnitte einen Einblick in eine Verfrühung oder Verspätung des diastolischen Abstiegs gewährt. Die Fälle sind vorzugsweise so geordnet, daß die klinotropen Wirkungen vor allem hervortreten sollten.

Es geht aus der Tabelle hervor, daß eine neg. klinotrope Wirkung ohne neg. inotrope nicht zu beobachten ist. Ferner zeigt sich, daß die neg. klinotropen Wirkungen, wenn auch nicht proportional, im allgemeinen um so deutlicher in die Erscheinung treten je mehr die neg. inotropen Wirkungen zur Beobachtung gelangen. Schließlich sei noch einmal darauf hingewiesen, daß in den Fällen, wo wir keine Veränderung der Gipfelhöhe und des Anstiegswinkels sehen, doch eine Formveränderung der Kontraktionskurve des Herzens in der Weise besteht, daß die Erschlaffung früher einsetzt (Vers. 14 A in Abb. 1).

Während nun über das Bestehen solcher neg. klinotroper Wirkung in rein deskriptivem Sinne kein Zweifel besteht, muß man beachten, daß eine direkte Hemmung oder Schwächung der die Zusammenziehung bedingenden Vorgänge nicht ganz ohne weiteres erschlossen werden kann. Zunächst ist zu beachten, daß, wie die Erfahrungen am Skelettmuskel zeigen, die erschlaffenden Vorgänge nicht etwa erst dann einsetzen, wenn die Zuckung ihren Gipfel erreicht hat, sondern sicherlich schon mehr oder weniger vorher. Der Zuckungsgipfel ist nicht als der Punkt aufzufassen, wo die Vorgänge der einen Art aufhören und die entgegengesetzten beginnen, sondern als der Punkt, wo die einen und anderen sich gerade das *Gleichgewicht* halten. Demgemäß ist denn an die Möglichkeit zu denken, daß die Verflachung des Anstieges lediglich darauf beruht, daß die erschlaffenden Vorgänge unter dem Einfluß der Vagusreizung früher und stärker einsetzen als bei unverändertem Herzzustande. Ich sehe vor der Hand nicht, wie man diese Annahme mit voller Sicherheit ausschließen kann. Gewiß aber darf man sagen, daß sie doch sehr wenig Wahrscheinlichkeit besitzt. Denn wenn auch die erschlaffenden Vorgänge schon während des Zuckungsanstieges einsetzen, so wird man sich doch nach Gesichtspunkten der Zweckmäßigkeit nicht leicht zu der Annahme entschließen, daß sie schon im ersten Beginn der Zuckung vorhanden seien, also mit den kontrahierenden gleichzeitig in die Erscheinung treten sollten. — Auch die Tatsache, daß die inotropen Hemmungen zuweilen so stark werden, daß sichtbare Zusammenziehungen gar nicht mehr vorhanden sind, wird sich mit der Annahme, daß es sich lediglich um eine Begünstigung der Erschlaffung handle, nicht in Ein-

klang bringen lassen. Ein solcher sogenannter „inotroper Stillstand“ ist, wie bekannt, am Vorhof oft beobachtet worden. Er ist durch das regelmäßige Weiterschlagen der Kammer bei Stillstand des Vorhofes charakterisiert. Auch ich habe diese Erscheinung häufig beobachtet. In der Regel zwar gelingt es, bei sorgfältiger Lupenbetrachtung minimale Bewegungen der Vorhofsmuskulatur wahrzunehmen. Ob das in allen Fällen sich so verhält, muß ich dahingestellt sein lassen. Ich habe diese Frage noch nicht des Genaueren verfolgt, da im gegenwärtigen Zusammenhange schon die Möglichkeit, die Kontraktion auf ein kaum mehr wahrnehmbares Minimum herabzusetzen, von entscheidender Bedeutung ist.

Ein letzter, hier zu berücksichtigender Punkt ist der folgende. Zu den Erfolgen der Vagusreizung gehört auch derjenige, den *Engelmann* als einen dromotropen bezeichnete, die Verminderung der Fortpflanzungsgeschwindigkeit. Nun muß man im Auge behalten, daß das nach dem Suspensionsverfahren aufgeschriebene Mechanogramm uns eine Formveränderung darstellt, an der, wenn nicht das ganze Herz, jedenfalls doch ein großer Teil desselben beteiligt ist. Da der Erregungsanstoß nun nicht die ganze Kammermuskulatur gleichzeitig trifft, sondern an ganz bestimmten Stellen einsetzt, um sich von dort aus auf die übrigen Teile auszubreiten, so versteht sich, daß eine Verminderung der Fortpflanzungsgeschwindigkeit geeignet ist, die Form des Mechanogramms zu ändern, auch wenn der Ablauf an jedem einzelnen Herzteilchen nicht geändert ist. Doch ist zu beachten, daß bei den zur Illustration der neg. klinotropen Wirkungen verwandten Mechanogrammen nur solche Kurven Verwendung gefunden haben, in denen das Intervall zwischen Beginn der Vorhofszuckung und Beginn der Kammerzuckung vor wie nach der Vagusreizung das gleiche war, also ein dromotroper Einfluß in den Überleitungsgebilden nicht erkennbar war. Dies dürfte auch eine Verringerung der Fortpflanzungsgeschwindigkeit in den Vorhofs- oder Kammerteilen selbst unwahrscheinlich machen.

Ich wende mich zur Besprechung der Acceleranswirkungen und möchte hier zunächst anführen, daß es mir nach einiger Einübung mit dem *v. Skramlikschen* Verfahren gelungen ist, solche Wirkungen zwar nicht in jedem Falle, aber doch so häufig zu erzielen, daß eine Untersuchung auf diesem Wege durchführbar war. Auch bei dieser Innervation begegnen wir in sehr ausgesprochener Weise zunächst den chronotropen Wirkungen. Obwohl deren Untersuchung zunächst außerhalb der gestellten Aufgabe lag, so möchte ich doch nicht unterlassen anzuführen, daß solche vielfach in ansehnlichem Betrage erhalten wurden. Ich beobachtete Frequenzvermehrungen meist auf das 2—2,5fache, in einem Falle auf das 5,5fache.

Was nun die uns hier eigentlich interessierenden Änderungen des Kontraktionsverlaufes anlangt, so kann in erster Linie eine vermehrte

Steilheit des Anstieges, eine positiv klinotrope Wirkung festgestellt werden. Wir werden daraus unbedenklich auf eine Verstärkung und Beschleunigung der kontrahierenden Vorgänge schließen dürfen. Aus den folgenden Pausen 6 a, b, c, d, e geht diese Beobachtung einheitlich hervor.

Ich möchte in dieser Änderung der Kontraktionsform sogar das wichtigste und konstanteste Merkmal der fördernden Wirkungen erblicken. Oft ist die Aufrichtung des vor der Reizung gedehnter ansteigenden Kurvenarms so ausgesprochen, die Kraftvermehrung der systolischen Zusammenziehung so heftig und plötzlich, daß man diese Kontraktionsänderung schon wahrnehmen kann, bevor die positiv inotropen Wirkungen in die Erscheinung treten. In Abb. 6, Pause c (Vers. 33 vom 23. XII. 1920) liegt ein derartiges Beispiel vor.

Ein genaueres Bild von den klinotropen Erfolgen gebe ich auch hier durch die nachfolgenden Tabellen, die ebenso, wie die vorhin mitgeteilten, auf die Vaguswirkung bezüglichen, eingerichtet sind. Tab. III.

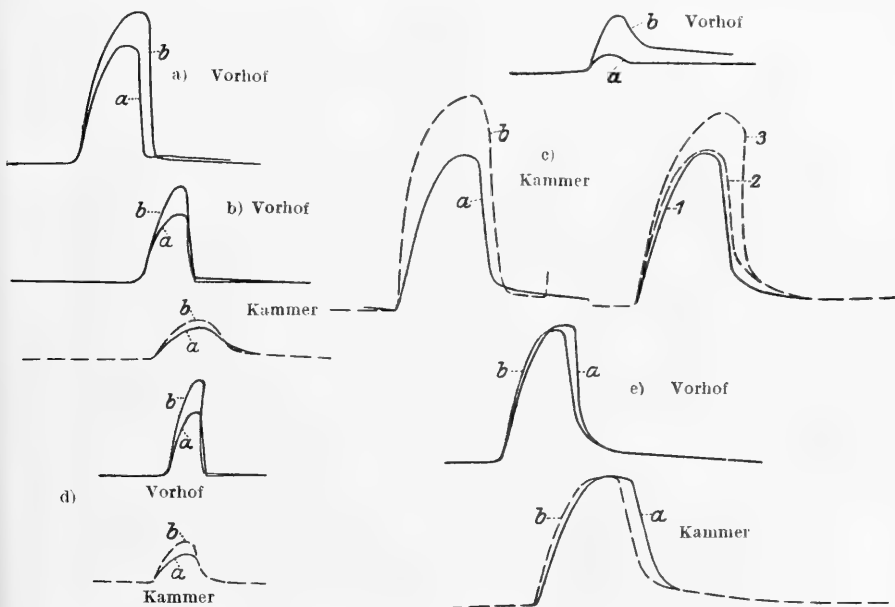


Abb. 6 a—e. a) Vers. 30 D vom 8. XII. 20. Reizung des rechten Accelerans.  $a$  = Letzte Kontraktion vor dem Reiz,  $b=4$ . Kontraktion nach Reizbeginn. b) Vers. 37 E<sub>II</sub> vom 3. I. 21. Reizung des rechten Accel., oben Vorhof.  $b=9$ . Kontraktion nach Reizbeginn, unten Kammer.  $b=7$ . Kontraktion nach Reizbeginn, sonst wie bei c). c) Vers. 33 A vom 23. XII. 20. Reizung des rechten Accel., oben Vorhof.  $b=7$ . Kontraktion nach Reizbeginn, unten Kammer. Links  $b=10$ . Kontraktion nach dem Reizbeginn; rechts drei aufeinanderfolgende Kontraktionen nach Reizbeginn. Bei 2, sieht man vor dem Eintreten pos. inotropen Wirkung die pos. klinotrope Wirkung. d) Vers. 37 E<sub>I</sub> vom 3. I. 20. Reizung des rechten Accel., oben Vorhof.  $b=11$ . Kontraktion nach Reizbeginn, unten Kammer.  $b=11$ . Kontraktion nach der Reizung. e) Vers. 45 D<sub>II</sub> vom 18. I. 21. Reizung des linken Accel., oben Vorhof.  $b=5$ . Kontraktion nach Reizbeginn, unten Kammer.  $b=5$ . Kontraktion nach Reizbeginn, sonst wie oben. — Der Mangel einer pos. inotropen Wirkung ist nur scheinbar. Er erklärt sich aus dem Höhenrückten der Fußpunkte der einzelnen Kontraktion (gleichsam aus einer „Tonuszunahme“).

Tabelle III.

Versuch	Nerv	Kontraktion nach Beginn der Reizung	Steilster Anstiegswinkel				Differenz in	
			Vorhof (abgerundet)		Kammer		Vorhof	Kamm.
			in °	in %	in °	in %		
30 D	R. Accel.	Vor d. Reizung	75	100				
R. A.		Nach d. Reizung						
0,0 cm		2	77	102			+2	
Reizdauer		3	80	106			+5	
5,4 Sek.		6	83	110			+8	
33 A	R. Accel.	Vor d. Reizung	54	100	73	100		
R. A.		Nach d. Reizung						
1,0 cm		1			78	107		+ 5
Reizdauer		2			83	114		+10
2,4 Sek.		6			84	115		+11
		7	75	138			+21	
		10	83	153			+29	
37 E	R. Accel.	Vor d. Reizung	70	100	44	100		
R. A.		Nach d. Reizung						
0,0 cm		1	73	104	51	115	+3	+ 7
Reizdauer		2	77	110	51	115	+7	+ 7
2 Sek.		3	78	112	54	122	+8	+10
		4	78	112	55	125	+8	+11
		5	78	112	55	125	+8	+11
		6	79	113	55	125	+8	+11
		7	80	115	55	125	+8	+11
		8—17			55	125		+11
45 D	L. Accel.	Vor d. Reizung	74	100	69	100		
R. A.		Nach d. Reizung						
4,0 cm		1	79	107	71	106	+5	+ 2
Reizdauer		2			74	107		+ 5
3,2 Sek.								
50 A	R. Accel.	Vor d. Reizung	72	100	65	100		
R. A.		Nach d. Reizung						
3,0 cm		1	74	102	71	109	+ 2	+ 6
Reizdauer		2	81	112	78	119	+ 9	+13
2,3 Sek		3	84	116	78	119	+12	+13
		4	87	120	78	119	+15	+13
		5	85	118	82	125	+13	+17
		6	83	115	82	125	+11	+17
		7	83	115	79	121	+11	+14
		8	83	115	75	114	+11	+10
		9	81	112	75	114	+ 9	+10
		10—13	79	109	75	114	+ 7	+10
		14	77	106	75	114	+ 5	+10
		15	77	106	75	114	+ 5	+10
		16	77	106	73	111	+ 5	+ 8
		17	75	104			+ 3	

Auch füge ich noch einige Tabellen ebenfalls gleicher Einrichtung hinzu über Versuche, in denen bei Reizung des ganzen Vagusstammes erst die hemmende und dann deutlich die fördernde Wirkung in Erscheinung trat.

Tabelle IV.

Versuch	Nerv	Kontraktion nach Beginn der Reizung	Steilster Anstiegswinkel				Differenz in °	
			Vorhof (abgerundet)		Kammer (abgerundet)		Vorhof	Kammer
			in °	in %	in °	in %		
54 D R. A. 16,0 Reizdauer 3,0 Sek.	R. Vago Accel.	Vor d. Reizung	40	100	47	100		
		Nach d. Reizung						
		1	28	72	39	84	-12	- 8
		2	13	33	63	134	-27	-16
		3	66	167	76	163	+26	+29
		4	77	194	81	172	+37	+34
		5	81	206			+41	
6	83	211			+43			
55 A R. A. 4,0 cm Reizdauer 3,2 Sek.	L. Vago Accel.	Vor d. Reizung	58	100	77	100		
		Nach d. Reizung						
		1	32	56	73	94	-26	- 4
		2	37	65	81	105	-21	+ 4
		3	48	83	83	107	-10	+ 6
		4	54	93			- 4	
		5	58	100			0	
		6 u. 7	70	121			+12	
		8	73	126			+15	
		10	80	139			+22	

Endlich gebe ich auch hier noch eine Zusammenstellung, die geeignet ist, den Zusammenhang zwischen der Vermehrung der Steilheit und der Zunahme der Gipfelhöhe (klino- und inotroper Wirkung) erkennbar zu machen. Im fünften Stab ist noch die Gipfelzeit angegeben, welche allein einen Einblick in eine Verfrühung der Diastole zu gewähren imstande ist. — Es ist aber bei der Bewertung des Zusammenhanges zwischen klino- und inotroper Wirkung hier sowohl wie auch bei den neg. Erfolgen des Nerv. vagus früher wohl zu beachten, daß für den Einfluß klinotroper Wirkung auf die Gipfelhöhe, also auf die inotrope Erscheinung, nicht allein der steilste Anstieg maßgebend ist, sondern auch die Zeitdauer, während welcher eine gewisse Steilheit des Anstieges innegehalten wird (s. Tabelle V folgende Seite).

Wenn wir in der Betrachtung des unter dem Einfluß der Acceleranzreizung gelieferten Mechanogramms weitergehen, so finden wir da, wenigstens in manchen Fällen, daß der Gipfel verbreitert erscheint. Man wird hierin den Ausdruck einer nicht nur verstärkten, sondern auch zeitlich ausgedehnten Kontraktionstätigkeit erblicken können. Zum

Beleg diene Abb. 6, Pause c (s. Seite 289). Diese Erscheinung ist jedoch keineswegs durchgängig zu beobachten. In vielen Fällen ist im Gegenteil festzustellen, daß der Gipfel der Zusammenziehung unter dem Einfluß der Acceleransreizung früher erreicht wird als normal. Wir werden

Tabelle V.

Ver- such	Kontraktion nach Reizbeginn	Inotrope Wirkung in %		Klinotrope Wirkung in %		Gipfelzeit in %	
		Vorhof	Kammer	Vorhof	Kammer	Vorhof	Kammer
33 A	1		100,0		100,0		100
	2		100,1		107		92,7
	3		126,5		114		113,5
	4		126,2		111		109,0
	5		141,5		114		123,5
	6		133,9		115		118,1
	7		134		118		119,0
37 E	1	122,2		104		105,0	
	2	123,4		110		107,0	
	3	123,4		112		105,0	
	4	122,2		112		105,0	
	5	126,9		112		105,0	
	6	128,0		113		105,0	
	7	133,5		115		105,0	
54 A	1	79,0	100,0	99	100	96,7	97,6
	2	100,0	105,1	103	103	93,4	97,6
	3	126,1	106,2	106	104	100,0	100,0
	4	160,2	103,1	109	104	106,8	100,0
	5	179,0	105,1	112	106	103,2	100,0
	6	181,5	100,0	113	107	106,8	97,6
	7	184,1		113		100,0	
	8	184,1		113		100,0	
30 B	1	100		100		94,2	
	2	100		100		93,0	
	3	103,8		104		88,3	
	4	103,2		103		87,0	
50 B	1	100		98		111,0	
	2	137,1		117		113,0	
	3	145,0		120,0		111,0	
	4	145,0		121,0		108,8	
	5	147,0		121,0		100,0	
	6	147,0		121,0		91,0	
	7	155,0		123,0		89,0	

auf diese theoretisch bedeutsamen Fragen hingeführt, wenn wir den absteigenden Schenkeln der Kurve selbst unser Augenmerk zuwenden. Schon *Baxt* hatte in der eingangs erwähnten Arbeit auf die große Bedeutung der Tatsache hingewiesen, daß die bei Acceleransreizung ein-

tretende Verkürzung der ganzen Herzperiode keineswegs auf der Verkürzung einer diastolischen Pause beruht, sondern der ganze Kontraktionsablauf verkürzt erscheint. Diese Verringerung der ganzen Kontraktionsdauer kann nun keineswegs allein auf Verfrühung der Gipfelzeit bezogen werden. Vielmehr zeigt, wie schon die *Skramlikschen* Kurven erkennen lassen, die durch den Accelerans beeinflusste Kontraktionskurve gegenüber der Norm auch einen beträchtlich steileren Abstieg. Ähnliches habe ich auch vielfach zu beobachten Gelegenheit gehabt. Zum Beleg dient die nachfolgende Tabelle VI (s. folg. Seite).

Hier sind im 3. Stabe die Neigungswinkel angegeben. Sie sind durch Bestimmung des Winkels gewonnen worden, den die an die steilste Stelle des Abstiegs gelegte Tangente mit der Ausgangslinie der Kontraktionskurve bildet. Daß dabei Winkel unter  $90^\circ$  zur Beobachtung kommen, erklärt sich dadurch, daß bei dem nach dem Suspensionsverfahren gewonnenen Mechanogrammen die Formveränderung des Herzens durch Hebel aufgezeichnet wird, die sich um eine horizontale Achse auf und ab bewegen, mithin auf der ruhenden Trommel einen Kreisbogen beschreiben. Ist die Fortbewegung der Trommel langsamer als die Abwärtsbewegung des die Erschlaffung verzeichnenden Hebels, so wird ebenfalls die Kurve noch andeutungsweise wie bei ruhender Trommel Bogenform erkennen lassen. Dieser Bogenfehler bedingt also gelegentlich Winkel unter  $90^\circ$ .

Unzweifelhaft hat ja nun diese Tatsache etwas besonders Auffälliges. Nach allgemeinen Anschauungen könnte man für wahrscheinlich halten, daß, wie die hemmenden Nerven den Erschlaffungsvorgang verstärken und beschleunigen, den Zusammenziehungsvorgang aber vermindern, so nun die fördernden Nerven den letzteren Vorgang verstärken, den ersteren aber verlangsamen und mehr oder weniger unterdrücken würden. Hier scheint nun im Gegenteil eine Beschleunigung auch des Erschlaffungsvorganges als Folge der Acceleransreizung einzutreten. Da sich aus diesem Grunde an diese klinotropen Wirkungen ein besonderes Interesse knüpft, so möchte ich dabei noch etwas genauer verweilen.

Es kann nämlich gefragt werden, ob die größere Steilheit des Abstieges wirklich als ein direkter Erfolg der Nervenreizung aufgefaßt werden muß, oder ob er etwa indirekt durch diejenige Veränderung herbeigeführt wird, die die kontrahierenden Vorgänge erfahren haben. In dieser Hinsicht ist namentlich daran zu erinnern, daß, wie für den Skelettmuskel wohl bekannt, die erschlaffenden Vorgänge um so schneller und stärker verlaufen, je höher der erreichte Grad der Zusammenziehung ist<sup>1)</sup>. Schon vor langer Zeit ist gezeigt worden, daß ein solcher Zusammenhang aus den ganzen Erscheinungen unvollkommener Tetani mit Sicherheit zu erkennen ist [*v. Kries*<sup>2)</sup>]. Bei einer rhythmischen

<sup>1)</sup> *v. Kries*, Bemerkungen zur Theorie der Muskeltätigkeit. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **190**, 83. 1921.

<sup>2)</sup> *v. Kries*, Untersuchungen zur Mechanik des quergestreiften Muskels. 3. Mitt. Über den zeitlichen Verlauf summierter Zuckungen. Arch. f. Physiol. 1888, S. 537.

Tabelle VI.

Ver- such	Kontraktion nach Reizbeginn	Neigungswinkel des steilsten Abstiegs in °		Differenz in % (abgerundet)		Ordinatenhöhe beim Beginn d. steilst. Abstiegs		Gipfelhöhe	
		Vorhof	Kam- mer	Vorhof	Kam- mer	Vorhof	Kam- mer	Vorhof	Kam- mer
30 D	Vor d. Reizung	92				11,0		16,0	
	Nach d. Reizung								
	1	92		0		12,0		16,0	
	2	91		— 1		14,0		18,0	
	3	89		— 3		14,9		19,8	
4 u. ff.	89		— 3		16,5		20,1		
30 E	Vor d. Reizung	92				12,8		15,1	
	Nach d. Reizung								
	1	92		0		12,8		15,1	
	2	94		+ 2		12,0		17,0	
	3	93		+ 1		13,5		18,2	
	4	93		+ 1		13,7		18,2	
	5	92		0		14,0		18,5	
6 u. ff.	95		+ 3		14,2		18,5		
33 A	Vor d. Reizung		91				17,5		20,2
	Nach d. Reizung								
	1		92		+ 1		17,5		20,2
	2		93		+ 2		17,0		20,3
	3		88		— 3		22,8		25,8
	4		89		— 2		22,8		25,8
	5		87		— 5		23,0		28,5
6—12		87		— 5		23,0		28,3	
37E II	Vor d. Reizung	97	128			6,5	3,6	9,2	4,6
	Nach d. Reizung								
	1	94	128	— 3	0	8,2	3,6	11,0	4,6
	2	93	126	— 4	— 2	9,5	4,0	11,2	4,8
	3	94	124	— 3	— 3	9,5	4,1	11,2	4,8
4 u. ff.	93	124	— 4	— 3	10,0	4,6	11,2	4,8	
50A II	Vor d. Reizung	96	124			5,6	6,0	6,2	7,1
	Nach d. Reizung								
	1	96	126	0	+ 2	5,6	5,4	6,9	7,1
	2	93	123	— 3	— 1	8,0	6,2	8,9	7,1
	3	92	120	— 4	— 3	8,0	6,2	9,2	7,1
	4	92	122	— 4	— 2	8,0	6,2	9,2	7,1
5 u. ff.	92	122	— 4	— 2	8,0	6,2	9,2	7,6	
54 D	Vor d. Reizung	149	161			1,2	1,8	2,0	2,3
	Nach d. Reizung								
	1	—	161		0	—	2,8	—	3,8
	2	135	145	— 10	— 10	3,0	5,0	3,8	6,0
	3	116	135	— 22	— 16	4,0	5,5	6,0	6,9
	4	101	125	— 32	— 22	5,6	6,1	7,9	7,2
	5	97	119	— 35	— 26	6,4	7,0	9,5	8,0
	6	97	118	— 35	— 27	7,0	7,2	10,0	8,2
	7	96	117	— 36	— 27	7,2	8,0	10,1	8,5
	8—20	96	115	— 36	— 29	8,0	8,4	10,5	9,0

Die Erläuterung siehe im Text Seite 293.



Folge von Reizen dauert die dem einzelnen Reiz entsprechende Längenverminderung weit kürzer als der Anstieg einer gewöhnlichen einzelnen Zuckung. Auch beim Abbrechen der Reize erfolgt das Absinken von der tetanischen Kontraktionshöhe mit einer Schnelligkeit, die bei dem Abstieg der gewöhnlichen Zuckung nicht erreicht wird. Diese und ähnliche Erscheinungen gestatten die Aufstellung der Regel, daß die Erschlaffung um so schneller Platz greift, je höher der Kontraktionsgrad ist. — Versucht man dies hier in Anwendung zu bringen, so kann man darauf hinweisen, daß in der Tat bei den Reizungen von Acceleransfasern, wenigstens wenn sie inotroper Natur sind, höhere Grade der Zusammenziehung erreicht werden, wie das ja darin zum Ausdruck kommt, daß wir von positiv inotropen Erfolgen sprechen. Gleichwohl ist es doch zweifelhaft, ob wir das beschleunigte Absinken der Kurve hierauf beziehen müssen. Um hierüber ein Urteil zu ermöglichen, habe ich in der obigen Tabelle immer noch zugleich denjenigen Grad der Zusammenziehung eingetragen, bei dem der Abstieg die größte Steilheit des Abfalls zeigt. Betrachtet man die Tabelle mit Rücksicht hierauf, so zeigt sich, daß die Neigungswinkel um so steiler sind bzw. die Erschlaffung um so rascher verläuft, je höher der Kontraktionsgrad des Herzens ist. Dabei liegen die Zeitpunkte, zu denen die Erschlaffungsgeschwindigkeiten am größten sind, ersichtlich um so früher, d. h. sind die Ordinatenhöhen, bei denen erstmals die größte Steilheit des Abstieges beobachtet wird, um so höher, je größer die Gipfelhöhen der Kontraktionen überhaupt sind (s. bes. Vers. 54 D). Daß die steilsten Abstiegswinkel nicht gleich nach Überwindung der Kurvengipfel auftreten, das liegt offenbar nach dem oben Erwähnten daran, daß hier die Gipfelbedingungen vorliegen, wonach die durch den N. acc. verursachte Verstärkung der kontrahierenden Vorgänge noch hemmend auf die Erschlaffungsprozesse einwirkt. (Rundung der Kurvengipfel.) Sehr lehrreich ist in dieser Hinsicht Vers. 33 A, wo bei der ersten und zweiten Kontraktionskurve nach Reizbeginn weder eine Erhöhung des Kontraktionsgrades noch eine Beschleunigung des Abstieges bemerkbar wird, vielmehr die Erschlaffung langsamer verläuft als vor der Reizung. Dies erklärt sich dadurch (s. Tab. 5, Vers. 33 A), daß bei diesen beiden Kontraktionen schon positiv klinotrope Wirkung am Anstieg zu sehen ist, eine positiv inotrope Wirkung aber noch vermißt wird. Hier erfolgt nun auch, wie erwähnt, das Absinken der Kurve nicht steiler, sondern sogar flacher als vorher. — Eine Ausnahme von dem angegebenen Verhalten macht nur Vers. 30 E. Ein Grund hierfür ist zunächst nicht aufzufinden. — Es geht jedenfalls aus der Tabelle VI hervor, daß die Abstiegsbeschleunigungen zu den positiv inotropen Wirkungen in fester Beziehung stehen.

Nach den Ergebnissen *Baxts* ist zu erwarten, daß gerade die Frequenzvermehrung mit einer Beschleunigung des ganzen Kontraktions-

ablaufes einhergehen wird. Richtig ist nun, daß die Beschleunigung des Abstieges oft nicht stark genug ist, um einen vollen Rückgang der Kurve auf die Nulllinie zu ermöglichen, vielmehr bei beträchtlich erhöhter Frequenz ein gewisses Maß von Verschmelzung, eine Abszissen-erhebung eintritt. Selbst bei beträchtlicher Steigerung der Frequenz, wenn eine Erhöhung der Zuckungsgipfel gar nicht oder nur in sehr geringem Betrage eingetreten ist, ist die erhöhte Steilheit des Abfalles nur manchmal und in geringem Betrage, aber nicht durchgängig zu bemerken.

Es sei hier eingeschaltet, daß die Wirkung des Accelerans nicht allein als eine Verstärkung einer zuvor bestehenden Herzstätigkeit zur Erscheinung kommen kann. Sie kommt auch in der Form zur Beobachtung, daß ein überhaupt nicht mehr schlagendes Herz wieder in Tätigkeit gebracht wird. Schon *H. E. Hering*<sup>1)</sup> hat einmal gesagt, daß man durch die Erregung der sympathischen Herznerven geradezu tote Herzen wieder zum Schlagen bringen könne. Ich habe nun tatsächlich einen solchen Fall bei Vers. 41 am 8. I. 1920 beobachtet<sup>2)</sup>.

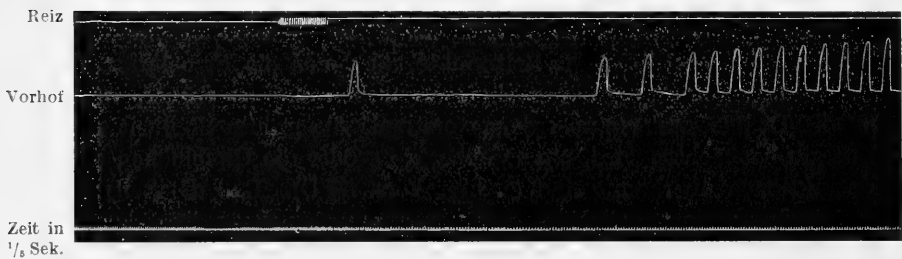


Abb. 7. Vorversuch vom 1. VI. 1922. Probeweise Reizung eines Astes vom linken Ram. card. n. vagi bei R. A. 1,0 cm bei einem nicht mehr schlagenden Herzen. Das Fehlen eigener Rhythmik konnte schon  $\frac{1}{2}$  Stunde lang festgestellt werden. Die Rhythmik kam auch durch vorher gegebene Reizgruppen nicht in Gang.

Nach 4stündigem Experimentieren an einem Froschherzen und fortgesetzter Nervenzerfaserung gab ich die Präparation schließlich auf, weil das Herz spontan nicht mehr schlug. Um mir aber später noch einmal über die anatomischen Verhältnisse und den Grad der Nerven aufteilung Rechenschaft zu geben, hielt ich das nicht mehr funktionierende Herz mit Watte, die in Ringerlösung getaucht war, feucht.  $4\frac{1}{2}$  Stunde später, also  $8\frac{1}{4}$  Stunde nach der Tötung des Frosches, lud ich einen der fraglichen accelerierenden Nervenästchen auf die Elektroden. Das nicht schlagende Herz beantwortete zwar mechanische Reize mit einer spitzen Nadel mit einer Kontraktion, aber die Rhythmik war auch durch mechanische Reizgruppen nicht in Gang zu setzen. Die Reize waren zu ganz anderen Zwecken,

<sup>1)</sup> *H. E. Hering*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **86**, 578. 1901; **115**, 354. 1906.

<sup>2)</sup> Inzwischen sind mir nach Abschluß dieser Arbeit bei elektrographischen Untersuchungen noch 2 weitere derartige Fälle zugestoßen. In einem Falle war zufällig probeweise die Trommel zur Registrierung in Gang gesetzt worden, so daß ich als einen Beleg solchen Verhaltens die Kurve 7 vorlegen kann.

nämlich um die recht- und rückläufige Erregungsleitung am Froschherzen zu beobachten, gesetzt worden. Als ich nun einen Probereiz der aufgeladenen Nerven-faser gab, begann zu meinem Erstaunen das Herz in beschleunigtem Tempo zu schlagen und allmählich in langsamer Schlagfolge wieder zu verharren, aus der es jedoch noch jedesmal wieder zu beschleunigter und verstärkter Tätigkeit durch Erregung jener Acceleransfaser erweckt werden konnte. Diese Beobachtung konnte ich noch über zwei weitere Stunden ausdehnen. Erst am nächsten Tage fand ich das völlig entblutete Herz tot und nicht mehr erregbar.

Wenn das Herz durch starken Blutverlust oder durch andere Schwächung seiner Muskelkraft durch Absterben oder Ermüdung nicht mehr recht schlug, so gelang es mir mit voller Sicherheit bei überhaupt noch reaktionsfähigem Herzen die minimalen, wellenförmigen und kaum merklichen Zusammenziehungen durch Erregung des N. accelerans in deutliche, um das Mehrfache verstärkte, gute Systolen zu verwandeln. Als Beleg zeige ich die Kurve von Vers. 54 D in Abb. 8, wo bei Reizung des Vagoaccelerans der verstärkende Erfolg am Vorhof wie besonders an der Kammer überraschend sich darbietet. (Man beachte zugleich die positiv klinotropen Wirkungen.)

Ogleich ich mir, wie erwähnt, in erster Linie die Aufgabe gestellt hatte, den Einfluß der Innervationen auf den Zuckungsablauf zu untersuchen, so gaben die Versuche doch zugleich auch noch zur Prüfung weiterer Verhältnisse Gelegenheit, die zwar in gewissem Umfange seit langem bekannt sind, aber auch noch keine erschöpfende Bearbeitung gefunden haben. Es sind dies die zeitlichen Verhältnisse der einzelnen nervösen Einwirkungen auf den Herzschlag. Schon in den grundlegenden Versuchen des Ludwigschen Instituts ist eine hierher gehörige Tatsache gefunden worden, die nämlich, daß beim Hund der Vagus mit einer



Abb. 8. Vers. 54 D vom 28. II. 1921. Auffallend große Verstärkungswirkung von Fasern aus dem rechten Vagusstamm. Man beachte zugleich die klinotropen Wirkungen am Anstieg und Abstieg.

kurzen Latenz und kurzer Nachdauer, der Accelerans dagegen mit einer beträchtlich größeren Latenz und namentlich einer sehr langen

Nachdauer (durchschnittlich 2—3 Minuten) wirksam wird. Damit hängt es zusammen, daß die Acceleransreizung, auch wenn sie während ihrer ganzen Dauer durch eine gleichzeitige Vaguserregung maskiert wird, hinterher in vollem Umfange wirksam werden kann. Es dürfte wohl jedem, der sich mit Reizungsversuchen am Herzvagus des Frosches beschäftigt hat, die Tatsache bekannt sein, daß auch die Zeitverhältnisse chronotroper und inotroper Wirkungen nicht übereinstimmen. Sind, was ja nicht immer, aber doch häufig der Fall ist, beide Erfolge stark ausgeprägt, so kann man fast jedesmal sehen, daß nach Beendigung der Reizung die chronotrope Wirkung alsbald abklingt, die inotrope aber noch beträchtlich andauert, so daß dieser eine erheblich ausgedehntere Nachdauer zugeschrieben werden kann. Genauere, namentlich messende Untersuchungen über diese Verhältnisse liegen aber, soweit mir bekannt, nicht vor. Sehr eingehend sind dagegen die *Anfangsstadien* negativ chronotroper sowohl wie inotroper Wirkung, also Latenz und Anstiegszeiten dieser Reizerfolge, untersucht worden. *Trendelenburg*<sup>1)</sup>, der auch über die älteren Versuche von *Donders*, *Nuël*, *Engelmann* u. a. berichtet, fand die Latenzzeit für chronotrope Wirkung ca. 1 Sekunde, für inotrope 0,3—0,4 Sekunden, die Anstiegszeiten für chronotrope Wirkung 1—1,5 Sekunde, für inotrope 3—3,5 Sekunde. Sind wir über einige Punkte durch die vorliegende Untersuchung genügend unterrichtet, so ist doch damit von den ganzen sich hier bietenden Fragen nur ein Bruchteil erledigt.

Um die zeitlichen Verläufe der einen und anderen Reizerfolge erkennbar zu machen, bediente ich mich am besten einer graphischen Veranschaulichung. Um zu einer solchen zu gelangen, bin ich nach allgemeiner Übung so zu Werke gegangen, daß die Zeit als Abszisse, die jeweilige Stärke einerseits des chronotropen, andererseits des inotropen Erfolges als Ordinaten aufzutragen waren. Im einzelnen ist dabei mehrerlei zu bemerken.

Was den inotropen Erfolg anlangt, so habe ich als Ordinatenwert das Verhältnis einer jeden einzelnen Kontraktionshöhe zu der vor der Reizung bestehenden normalen Kontraktionshöhe gewählt, also den Bruch  $C/C_n$ , wenn  $C$  die Höhe der jeweiligen einzelnen Zusammenziehung,  $C_n$  die normale Kontraktionshöhe bezeichnet. Dementsprechend kommt die negativ inotrope Wirkung als Senkung der Kurve unter die der Einheit entsprechenden Ordinatenhöhe, die positiv inotrope als Steigen über die Einheit zur Erscheinung. Als Abszissenpunkt, über dem diese Ordinate aufzutragen ist, habe ich immer den Anfangspunkt der betreffenden Kontraktion gewählt. Dies wird einem Bedenken um so weniger unterliegen, als wenn man statt dessen den Zeitpunkt des Kontraktionsgipfels oder irgendeinen Punkt des Anstiegs wählen wollte — woran man ja denken kann — damit kaum eine nennenswerte Änderung der Kurve sich

<sup>1)</sup> *Trendelenburg, W.*, Über die Summationserscheinungen bei chronotroper und inotroper Hemmungswirkung des Herzvagus. *Engelmanns Arch.* 1902, Supplementband.

ergeben würde. Zu beachten ist freilich, daß die Kontraktionsumfänge nicht immer ein ganz richtiges Bild von der Stärke der inotropen Wirkung geben, wie das vorhin besprochen wurde. Man könnte im Hinblick hierauf wohl auch daran denken, als Maß der inotropen Wirkung lediglich die Höhe der Kontraktionsgipfel zu verwenden. Doch würde diese Darstellung wohl zu noch größeren Bedenken Anlaß geben. Man wird also nun im Auge behalten müssen, daß eine graphische Veranschaulichung der hier gewünschten Art, da sie die Stärke des inotropen Erfolges durch *einen* Wert auszudrücken hat, niemals ganz erschöpfend sein kann und daß man daher niemals unterlassen darf, neben der graphischen kurvenmäßigen Darstellung auch die Aufzeichnung der Herztätigkeit selbst zu betrachten und zu prüfen.

Was die chronotropen Erfolge anlangt, so schien es mir richtig, ihre Darstellung möglichst nach dem gleichen Prinzip wie die der inotropen auszuführen. Ich habe also als Ordinaten die Beträge der Herzfrequenzen, d. h. den reziproken Wert der Herzperiode aufgetragen. Wird dabei als Einheit die vor der Reizung bestehende normale Frequenz zugrunde gelegt, so sind die aufzutragenden Werte durch den Bruch  $P_n/P$  gegeben, wo  $P$  die jeweilige,  $P_n$  die normale Periode bedeutet. Wiederum wird sich der negative verzögernde Erfolg als Senkung der Kurve unter dem Einheitswert, der positive beschleunigende als Erhebung über die Einheit darstellen. — Einer besonderen Erwägung bedarf es hier, auf welchen Punkt der Abszisse ein solcher Ordinatenwert aufzutragen ist. Wie lang die einzelne Herzperiode ist, d. h. wie lange nach der vorausgehenden eine Herzkontraktion einsetzt, das bestimmt sich ja offenbar durch einen Ablauf von Vorgängen, die sich über einen beträchtlichen Teil dieser ganzen Periode erstrecken. Beziehen wir die in der angegebenen Weise gemessene Größe chronotroper Wirkung, wie es für eine graphische Darstellung erforderlich ist, auf *einen* bestimmten Zeitpunkt, so ist das stets mehr oder weniger ungenau oder mindestens willkürlich. Ich habe mich schließlich dafür entschieden, den Beginn einer Herzperiode, also den Anfangspunkt bezw. Fußpunkt einer Kontraktion, der also zugleich auch den Endpunkt der abgelaufenen Herzperiode darstellt, als Abszissenpunkt zu wählen. Dadurch erscheinen die Ordinatenwerte für chronotrope Wirkung über denselben Abszissen wie für die inotrope Wirkung.

Die Lösung der vorgezeichneten Aufgabe wird durch mehrerlei Umstände erschwert. Erstlich unterliegt es keinem Zweifel, daß die Stärke der einzelnen Herztätigkeiten durch den zeitlichen Zwischenraum, in dem sie auftreten, beeinflußt wird. Vergrößerung des Intervalls, Verminderung der Frequenz vergrößert im allgemeinen den Zuckungsumfang. Unter Umständen geschieht das in der Form, daß die diastolische Erschlaffung weitergeht, also die Ausgangshöhen abnehmen (Sinken der Abszisse), öfter aber auch so, daß die erreichten Kontraktionshöhen steigen. Im letzteren Falle pflegt man anzunehmen, daß bei längerem Intervall eine ausgiebigere Wiedererholung stattfindet. Wie dem im einzelnen Fall auch sein mag, jedenfalls haben wir es hier mit einer *indirekten* Beeinflussung des Kontraktionsumfanges zu tun. Es versteht sich, daß hierdurch vorhandene inotrope Wirkungen maskiert, ebenso aber auch inotrope Wirkungen vorgetäuscht werden können, wo in Wirklichkeit solche nicht vorliegen. Schon im Hinblick hierauf ist bei der Deutung der Versuchsergebnisse eine gewisse Vorsicht geboten.

Ein weiterer hier zu beachtender Punkt ist der folgende. Die beschleunigenden Wirkungen sind, wie bekannt, als Wirkungen aufzufassen, die die Stellen der Reizerzeugung in den großen Hohlvenen und dem Sinus venosus betreffen. Wird durch eine Beeinflussung dieser Stellen eine starke Beschleunigung herbeigeführt, so kann es kommen, daß die anderen Teile des Herzens, namentlich die Kammer, nach Maßgabe ihres physiologischen Zustandes sich auf eine so hohe Frequenz nicht einstellen können und demgemäß sich entweder dauernd auf eine Halbfrequenz einstellen oder auch wohl in nicht ganz regelmäßiger Weise ab und zu einen Schlag ausfallen lassen.

Endlich wird die Erkennung der zeitlichen Verläufe dadurch erschwert, daß im allgemeinen eine *Mehrzahl von Fasern* gereizt und dadurch eine Kombination mehrerer Wirkungen herbeigeführt wird. Ist z. B. nach der Reizung eines gemischten Nerven eine Verlangsamung des Herzschlages eingetreten, die nach einer bestimmten Zeit ihren Höchstwert erreicht hat, um einer Wiedervermehrung der Frequenz Platz zu machen, so kann man im Zweifel sein, ob wirklich die negativ chronotrope

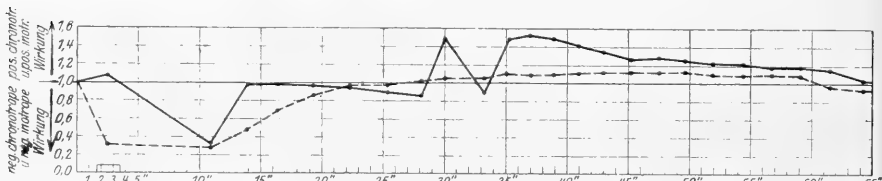


Abb. 9. Vers. 48 A. (29. I. 1921). ——— Zeitlicher Verlauf der chronotropen Wirkung des Vohofs. - - - - - Zeitlicher Verlauf der inotropen Wirkung des Vohofs.  Reiz bei R. A. 8,5 cm.

Wirkung, die verlangsamende Reizwirkung in diesem Zeitpunkt ihren Gipfel überschritten hat, oder ob hier der später einsetzende Erfolg beschleunigender Fasern bemerkbar wird. Dieser letzten Schwierigkeit würde sich allerdings ausweichen lassen, wenn es gelänge, mit Hilfe der Auffaserung Fasergruppen zu isolieren, die in funktioneller Hinsicht als einheitlich betrachtet werden dürfen. Es ist daher hier der Ort, auf diese eingangs gestreifte Frage zurückzukommen.

In dieser Hinsicht sei zunächst angeführt, daß man oft bei Reizung schon ungemein dünner Faserbündel noch in ausgesprochener Weise die Kombination fördernder und hemmender Wirkungen zu sehen bekommt. Beispiele hierfür bietet die Abb. 9, die den Erfolg der Reizung eines auch unter der Lupe nicht mehr weiter zerlegbaren Bündelchens veranschaulicht.

Man sieht hier, daß die verlangsamende Wirkung bei der 11. Sekunde ihren Höchstwert erreicht hat, bei der 14. Sekunde ist sie der ursprünglichen wieder gleich geworden. Von der 30. Sekunde ab ist die Beschleunigung unmittelbar erkennbar. Aller Wahrscheinlichkeit nach aber sind die Kammerschläge von der 14.—28. Sekunde auf Halbfrequenz eingestellt gewesen, denn wir sehen bei der

33. Sekunde nochmals ein weit größeres Intervall eingeschoben. Jedenfalls ist der kombinierte Erfolg, Verlangsamung mit darauffolgender Beschleunigung hier unzweideutig erkennbar, trotz der Kleinheit des gereizten Faserbündels. Auch inotrop sieht man die anfängliche Abschwächung von einer allerdings nicht sehr ausgesprochenen Verstärkung gefolgt.

Ein ähnliches Bild zeigt die Abb. 10. Hier ist zuerst, noch während der Reizung ein verfrühter und verstärkter Herzschlag erkennbar (Stromschleifen?). Dann folgt nach vorübergehender Verlangsamung eine sehr ausgesprochene Beschleunigung, während inotrop nur eine mäßig positive Wirkung hervortritt.

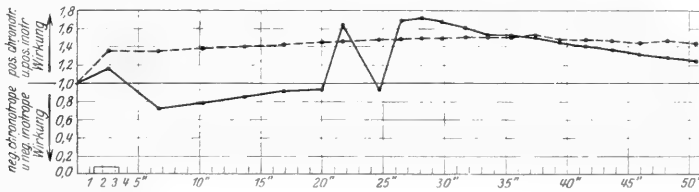


Abb. 10. Vers. 37. E. I. (3. I. 1921). Vorhof. — Reiz bei R. A. 0,0 cm. Sonst s. oben.

In nicht seltenen Fällen gelingt aber die Isolierung rein fördernder Fasern. Besonders belehrend sind die Fälle, in denen zunächst ein Bündelchen erhalten wird, bei dessen Reizung man zwar starke beschleunigende Wirkung erhält, der jedoch noch eine Hemmungswirkung vorausgeht. Bei nochmaliger Aufspaltung aber erhält man dann zuweilen ein kleineres Faserbündel, bei dessen Reizung die fördernde Wirkung rein hervortritt, von einer vorausgehenden Hemmung aber nichts wahrnehmbar ist. Ein Beispiel dieses vorzugsweise wichtigen Verhaltens bietet Abb. 11 a und b. Sie zeigt den Verlauf der ganzen Arbeitsweise

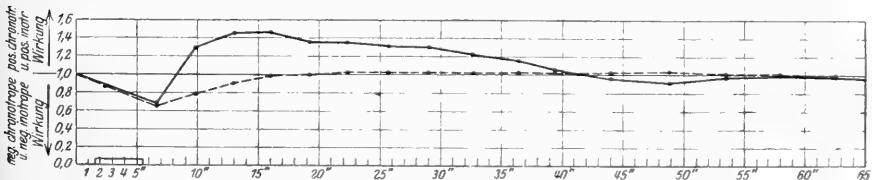


Abb. 11 a. Vers. 45 A. (18 I. 21.) — Zeitlicher Verlauf der chronotropen Wirkung des Vorhofs.  
 - - - - - Zeitlicher Verlauf der inotropen Wirkung des Vorhofs. [ ] Reiz bei R. A. 11,5 cm.

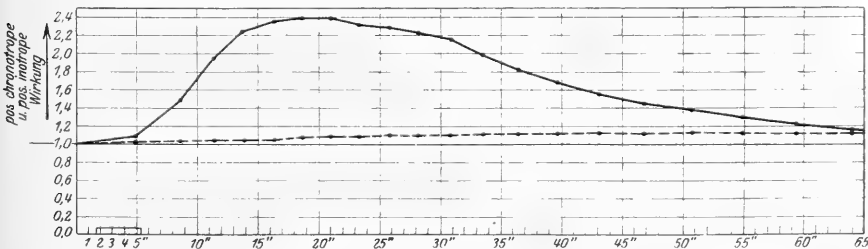


Abb. 11 b. Derselbe Versuch nach Aussonderung beigemischter Vagusfasern. — Reiz bei R. A. 6,5 cm.

bis zum eigentlichen Endziel der Auffindung reiner accelerierender Fasern. Abb. 11a erweist noch die Beimischung von Vagusfasern, in 11b kommt die Acceleration rein zum Ausdruck.

Man hätte wohl erwarten können, in ähnlicher Weise auch zu einer Sonderung chronotroper und inotroper Hemmung gelangen zu können, Denn, wenn man auch von mehr oder weniger bestrittenen theoretischen Gesichtspunkten ganz absieht, so ist doch nicht zu bezweifeln, daß die chronotropen Erfolge durch Fasern hervorgerufen werden, die an den Sinus oder die großen Hohlvenen gehen, die inotropen dagegen durch solche, die in die Muskulatur der Vorhöfe und der Kammer selbst eintreten. Diese Erwartung hat sich indessen nur zum Teil bestätigt. Daß das Verhältnis des verzögernden und des abschwächenden Erfolges ein sehr wechselndes ist, darf als bekannt gelten. Auch ich habe mich ausgiebig davon überzeugt. Es ist mir nun bei meinen Auffassungen mehrfach vorgekommen, daß zwar nicht dieses Verhältnis sich änderte, wohl aber die chrono- und inotropen Erfolge im allgemeinen durch Reizung verschiedener Nervenfibrillenbündel sich sehr verschoben haben. Ich bekam gelegentlich negativ inotrope Wirkungen bei positiv chronotropen und positiv inotropen Wirkungen bei Verlangsamung des Herzschlages oder unveränderter Frequenz zu sehen. Am selben Herzen einmal ein nur schwächendes, und einmal ein nur verlangsamendes Bündel zu erregen, ist mir aber nicht gelungen.

Trotz der erwähnten Schwierigkeiten lassen sich nun aus den Beobachtungen, sobald die Erfolge in der angegebenen Weise graphisch veranschaulicht werden, eine Anzahl von Tatsachen einwandfrei erweisen. So bestätigt man zunächst leicht, was häufig auch der Versuch schon unmittelbar erkennen läßt, daß die chronotropen und die inotropen Erfolge hinsichtlich ihres zeitlichen Verlaufes verschieden sind. Und zwar besteht dieser Unterschied wesentlich darin, daß die *Abschwächungen* eine *längere Nachdauer* zeigen. Dagegen sind die Zeiten, während deren der Erfolg zunimmt, die *Anstiegszeiten* nicht oder doch nur unerheblich verschieden, so sieht man in Abb. 12, 13, 14, 15, 16 und 17 die beiden Kurven genau oder doch annähernd in gleichem Zeitpunkt ihre tiefste Einsenkung erreichen.

Das Nämliche gilt auch für die Abb. 18, die die Verhältnisse des Kammerschlages darstellt. Nur in Abb. 19 fallen die tiefsten Einsenkungen etwas auseinander, und zwar erreicht die Verzögerungswirkung hier bei Sekunde 5,2, die Abschwächung erst bei Sekunde 7,2 den Höchstwert.

Ich habe, um diesen Punkt näher hervortreten zu lassen, in der folgenden Tabelle für eine größere Zahl von Versuchen die Gipfelzeiten der chronotropen und der inotropen Hemmung zusammengestellt.



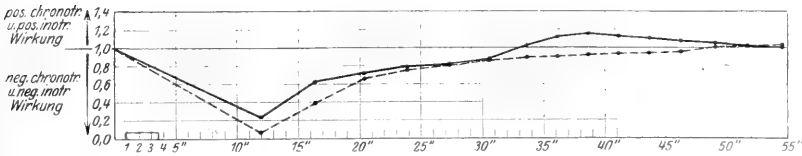


Abb. 12. Vers. 9 C I (6. I. 21) Vorhof. — Reiz bei R. A. 9,4 cm.

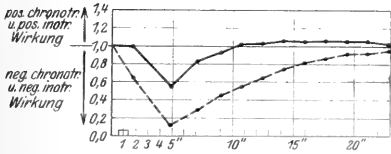


Abb. 13. Vers. 15 A (6. XI. 20).  
— Reiz bei R. A. 6,3 cm.

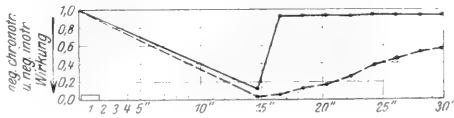


Abb. 14. Vers. 13 A (3. XI. 20) Vorhof.  
— Reiz bei R. A. 5,2 cm.

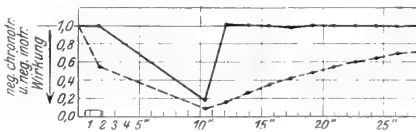


Abb. 15. Vers. 8 B Vorhof. — Reiz bei R. A. 3,5 cm.

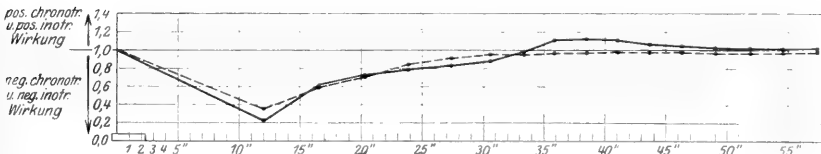


Abb. 16. Vers. 39 C I (6. I. 21.) Kammer. — Reiz bei R. A. 9,4 cm.

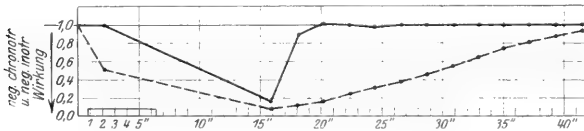


Abb. 17. Vers. 46 A II (20. I. 21). Vorhof. — Reiz bei R. A. 10 cm.

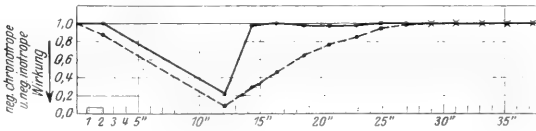


Abb. 18. Vers. 18 A (20. XI. 20.) Kammer. — Reiz bei R. A. 11 cm.

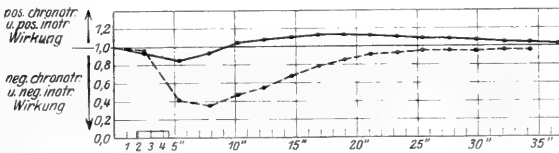


Abb. 19. Vers. 35 A (28. XII. 20) Vorhof. — Reiz bei R. A. 1 cm.

Tabelle VII.

Versuch	Höchstwert nach Sekunden für Wirkung	
	chronotrope	inotrope
1 A	10,12	5,80
1 B	5,52	8,09
2 A	11,36	7,41
2 B	5,62	9,35
2 C	4,54	6,77
5 A	8,60	8,60 (!)
6 B	8,63	8,63 (!)
7 B	12,45	15,18
7 C	4,75	7,63
8 B	9,05	10,66
13 A	14,74	14,74 (!)
15 A 1	4,93	7,02
15 A 2	3,94	5,81
17 A	8,43	6,30
17 B 1	4,91	7,32
17 B 2	7,46	5,55
18 A	12,08	12,08 (!)
20 A	5,74	7,82
	142,87	154,76

Es zeigt sich, daß bald die eine, bald die andere Gipfelzeit größer ist. Die aus der obigen Tabelle gewonnenen Durchschnittswerte 8 und 8,6 stimmen fast genau überein.

Die Befunde stehen in einem scheinbaren Widerspruch zu denjenigen *Trendelenburgs*, der die Anstiegszeiten für die chronotropen Erfolge kürzer als für die inotropen, überdies für beide beträchtlich niedrigere Werte angibt. Nämlich für die chronotrope 1—1,5, für die inotrope Anstiegszeit 3—3,5 Sek. Bei dem Vergleich muß zunächst berücksichtigt werden, daß die *Trendelenburgs*chen Anstiegszeiten vom Beginn der sichtbaren Wirkung, vom Ende der Latenz gerechnet sind, während ich sie vom *Beginn der Reizung* gerechnet habe. Wichtiger ist jedoch, daß *Trendelenburg* mit ganz kurz dauernden Reizgruppen arbeitete, während ich lange dauernde Reizungen (bis zu 5 Sek.) anwendete. Ich habe dies Verfahren bevorzugt, da es dabei im allgemeinen leichter gelingt, ausgiebige Wirkungen der einen und anderen Art zu erhalten, überdies auch die komplizierten Hilfsmittel entbehrlich werden, die für eine genaue Festlegung der Reizzahl bei den kurzen Gruppen erforderlich sind. Ich bin mir aber wohl bewußt gewesen, daß meine Versuche dadurch für die Beurteilung des ansteigenden Verlaufes weniger geeignet werden. Denn es kann natürlich wohl der Fall sein, daß z. B. die einen Reize stark untermaximal sind, demgemäß eine länger andauernde Summation stattfindet und auch die letzten Reize der ganzen Reizungszeit noch stark ins Gewicht fallen, während vielleicht die anderen relativ stärker sind, so daß der Erfolg schon durch die Reize der ersten Sekunde oder Halbssekunde bestimmt wird und die späteren Reize in dieser Richtung ohne Bedeutung sind. Dieser Schwierigkeit entgeht man, wenn man sich, wie *Trendelenburg* tat, auf kurzdauernde Reizgruppen beschränkt. Da also in bezug auf diesen Punkt die sorgfältigen Bestimmungen *Trendelenburgs* vorlagen, so habe ich nicht für notwendig erachtet, meine Versuche durch die Einrichtungen zu komplizieren, die erforderlich gewesen wären, um in dieser

Beziehung ganz einwandfreie Ergebnisse zu erhalten. Als Resultat kann ich demgemäß meinen Beobachtungen auch nur entnehmen, daß die chronotropen und inotropen Anstiegszeiten sich nicht sehr erheblich unterscheiden. Es wird also anzunehmen sein, daß die von *Trendelenburg* gefundenen Unterschiede bei meinen Erfahrungen durch zufällige Schwankungen von anderen Seiten verdeckt werden.

Daß also, wie wir aus den angegebenen Versuchen *Trendelenburgs* entnehmen dürfen, die abschwächenden Wirkungen etwas träger als die verzögernden schon im Anstieg verlaufen, gewinnt an Interesse durch die weitere Feststellung, daß die inotropen Erfolge in den *meisten* Fällen die *weit längere Nachdauer* zeigen. Es ist dies an den mitgeteilten Versuchen 13, 14, 17 und 19 sehr deutlich zu sehen, wie ein Blick auf die Kurven erkennen läßt.

Um auch einen zahlenmäßigen Beleg für diese Verhältnisse zu geben, habe ich in der folgenden Tabelle VIII im 3. Stab diejenigen Beträge inotroper Wirkung angegeben, die in demjenigen Zeitpunkt vorhanden sind, in dem der verzögernde Erfolg zu Ende ist. Im 2. Stab ist der Höchstbetrag angegeben, den die abschwächende Wirkung überhaupt erreicht hat.

Es ist auf diese Weise leicht erkennbar, daß in dem Augenblick, wo die ursprüngliche Frequenz erreicht ist, die Abschwächung noch in erheblichem Betrage andauert, ja sogar meist erst in mäßigem Verhältnis von ihrem Höchstbetrage abgesunken ist.

Tabelle VIII. (Erklärung s. u.)

Versuch	Höchstbetrag inotroper Wirkung	Betrag inotroper Wirkung, am Ende chronotroper Wirkung unmittelbar	Abnahme in Teilen des Höchstwertes	Bemerkungen
2 C	0,95	0,74	0,22	Vorhof
	0,22	0,17	0,23	Kammer
6 B	0,92	0,93	Höchstwert noch nicht erreicht	Vorhof
8 B II	0,91	0,82	0,09	Vorhof
13 A I	0,95	0,73	0,23	Vorhof
	0,55	0,55	0,0	Kammer
35 A	0,64	0,64	0,0	Vorhof
	0,30	0,30	0,0	Kammer
39 C	0,93	0,17	0,82	Vorhof
	0,67	0,08	0,88	Kammer
46 A	0,94	0,44	0,53	Vorhof
	0,14	0,10	0,29	Kammer
47 B II	0,95	0,95	0,0	Vorhof
	0,50	0,47	0,06	Kammer

Ein vielleicht noch besseres Bild gewinnt man, wenn man die Zeitpunkte ermittelt, zu denen die inotrope Hemmung auf einen bestimmten Bruchteil ihres Höchstwertes abgesunken ist. Wie man dies des genaueren definieren will, ist allerdings einigermaßen willkürlich, aber auch nicht von großer Bedeutung, da es sich nur darum handelt, eine bestimmte zahlenmäßige Illustration zu geben. Ich

bin so zu Werke gegangen, daß ich als Maß für den jeweiligen Grad inotroper Wirkung den Betrag genommen habe, um den der mehrerwähnte Quotient  $C/C_0$  hinter der Einheit zurückbleibt. Ist also z. B. der geringste Wert desselben 0,3, so würde hier die inotrope Wirkung mit 0,7 bewertet. Als ein bestimmtes Absinken derselben wäre z. B. dann anzunehmen, wenn dieser Wert sich auf die Hälfte vermindert hat, also 1—0,35 geworden ist, oder, mit anderen Worten, unsere, die inotrope Wirkung darstellende Kurve die Höhenlinie 0,65 schneidet. Die Zusammenstellung Tab. VIII enthält für eine Anzahl von Versuchen einerseits das Ende der chronotropen Wirkung, andererseits die Zeitpunkte, zu denen die inotrope Wirkung auf einen gewissen Teil ihres Höchstwertes abgesunken ist.

Obwohl diese Verhältnisse mit großer Regelmäßigkeit zur Beobachtung kommen, darf ich doch nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, daß ich auch gelegentlich Abweichungen beobachtet habe. Eine solche bildet z. B. der in Abb. 12 und 18 dargestellte Versuch, in dem die verzögernde und die abschwächende Wirkung annähernd parallel verlaufen.

Wenn man den mitgeteilten Tatsachen die Folgerung entnimmt, daß der zeitliche Verlauf der chronotropen und der inotropen Hemmungswirkungen namentlich hinsichtlich der Nachdauer verschieden ist, so kann dagegen ja nun der Einwand erhoben werden, daß die Nachdauer der chronotropen Wirkung durch die später einsetzenden beschleunigenden Erfolge verdeckt worden sei. In ganz zwingender Weise läßt sich das allerdings wohl kaum ausschließen. Doch kann man wohl mit Grund diese Deutung für sehr unwahrscheinlich erklären. Denn wir finden in zahlreichen Fällen, daß die Frequenzverminderung nach Ablauf einer bestimmten Zeit einfach auf den ursprünglichen Wert zurückgeht, eine positiv chronotrope Wirkung aber gar nicht zur Beobachtung kommt. Dies läßt ein Blick auf die Abb. 15, 17 und 18 erkennen.

Wenden wir uns dem zeitlichen Verlauf der fördernden Wirkungen zu, so läßt schon ein Blick auf die Kurven 20 und 11 b<sup>1)</sup> erkennen, daß

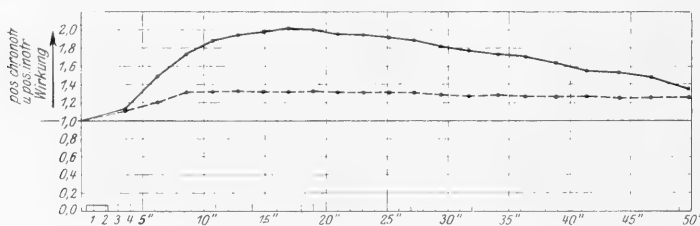


Abb. 20. Vers. 37 C (3. L 21) Vorhof.  Reiz bei R. A. 0,5 cm.

wir hier,<sup>6)</sup> wie es nach dem für den Säuger bekannten Tatsachen zu erwarten war, einen noch beträchtlich trägeren Verlauf als bei den Hemmungserfolgen haben. Auch hier jedoch läßt die Einzelbetrachtung eine Anzahl von Tatsachen erkennen, die nicht so selbstverständlich sind, z. T. sogar etwas Überraschendes haben.

<sup>1)</sup> s. Seite 301.

Zunächst sei hier noch darauf hingewiesen, daß von den erhaltenen Kurven einige, 9 und 10, Unregelmäßigkeiten erkennen lassen, die eine genauere Prüfung und Erörterung notwendig machen (s. Seite 300 und 301).

Die sprungweisen Einsenkungen, die diese Kurven darbieten, zeigen ja an, daß in eine Reihe von Herzschlägen höherer Frequenz ein oder einige Male eine längere Periode eingeschaltet ist. Hier liegt offenbar die vorhin schon angedeutete Erscheinung vor, daß die Kammer den schnellen Vorhofschlägen noch nicht ganz zu folgen vermag und daher ein Kammerschlag ausfällt. Ist aber dies der Fall, so wird mit Wahrscheinlichkeit anzunehmen sein, daß auch schon vorher die Kammer der Frequenz des Vorhofschlages nicht mehr voll zu folgen vermochte, sondern sich auf Halbfrequenz eingestellt hat. Die mit dieser Komplikation behafteten Versuche sind also nicht geeignet, uns ein Bild von dem Zeitverlauf der accelerierenden Wirkung zu geben und müssen hier ausscheiden. In anderen Fällen sehen wir die fördernden Wirkungen zwar ohne diese Komplikation dargestellt, doch gehen ihnen die hemmenden Wirkungen voraus, so daß wir daraus auf den Reizerfolg gemischter Faserbündel schließen dürfen. Nehmen wir an, daß in dem Zeitpunkt, wo die fördernde Wirkung bemerklich wird, die hemmenden Erfolge bereits ganz abgeklungen sind, so würde sich in diesen Kurven der Zeitverlauf der fördernden Wirkungen, abgesehen von einem kurzen Anfangsstück, erkennen lassen. Doch kann das namentlich für die inotropen Erfolge nicht als sicher betrachtet werden. Ganz einwandfrei sind also für die uns hier beschäftigende Frage nur die Versuche zu verwerten, in denen bei Reizung rein fördernder Nervenbündel eine voraufgehende Hemmungswirkung nicht erkennbar ist und in denen der glatte und einheitliche Verlauf der Kurven mit Wahrscheinlichkeit den Schluß gestattet, daß lediglich fördernde Fasern gereizt worden sind. Von dieser Art sind die Kurven 20, 21 und 11 b.

Prüft man zunächst, nach wie langer Zeit die Höchstwerte der Wirkung erreicht werden, so sieht man, daß diese beträchtlich schwanken. Sie bewegen sich zwischen 6 Sekunden bei Abb. 21 und 18 Sekunden bei Abb. 11 b vom Beginn der Reizung an gerechnet. Es ist wohl anzunehmen, daß diese Unterschiede mit den oben erwähnten Verhältnissen der Summation in Zusammenhang stehen. Es würden Versuche

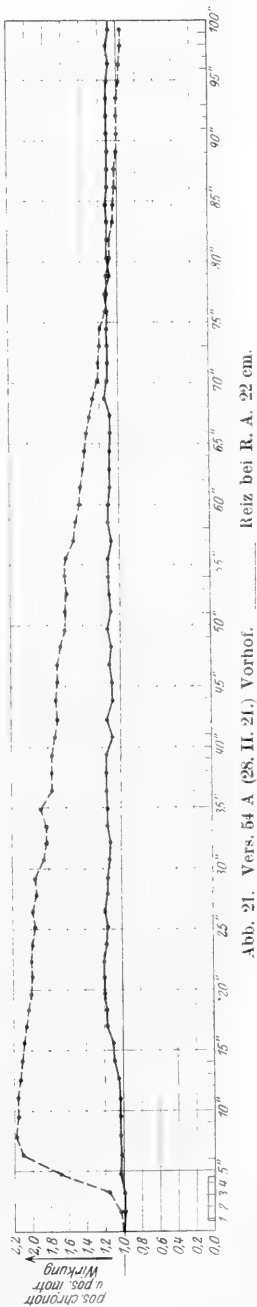


Abb. 21. Vers. 64 A (28. II. 21.) Vorhof.

mit kurzen Reizgruppen erforderlich sein, um dies des genaueren aufzuklären. Vorderhand läßt sich nur sagen, daß auch der Unterschied in den Zeitverhältnissen beschleunigender und verlangsamender Wirkung im Anstieg und Gipfelzeit doch relativ wenig hervortritt, dagegen aber in dem Abklingen des Erfolges sich vorzugsweise ausgeprägt findet. Hier fällt ja in der Tat die sehr lange Nachdauer sogleich ins Auge. Die Messung lehrt, daß, wenn wir die Größe des jeweiligen Erfolges in der gleichen Weise bewerten, die vorhin für die hemmende Wirkung angewendet wurde, daß noch 50, 60, ja selbst 80 Sekunden nach der Reizung noch sehr ansehnliche Beschleunigungen vorhanden sind (s. Kurven). Bemessen wir die Stärke des jeweils vorhandenen Erfolges nach dem gleichen Prinzip, das vorhin für die verzögernde und schwächende Wirkung angewendet wurde, so ist hier zur zahlenmäßigen Angabe der gewünschten Verhältnisse eine kleine Abänderung nötig.

Um nämlich den Zeitpunkt festzustellen, zu dem die Beschleunigung abgeklungen war, die Herzperiodendauer, also die gleiche, wie vor der Reizung war, reichten die mechanographischen Kurven oft wegen der langen Dauer der Wirkung und dem raschen Trommelumlauf nicht aus. Es wurde deshalb in der folgenden Tabelle so verfahren, daß in der Herzperiode, die gerade 30 Sekunden nach Reizbeginn abließ, jeweils in der oben erwähnten Weise die chrono- und inotrope Wirkung festgestellt wurde. Das weitere geht aus den Angaben der Tabelle hervor.

Tabelle IX.

Versuch	Chronotrope Wirkung Höchstbetrag	Betrag 30 Sek. nach Reizbeginn unmittelbar	Abnahme in Teilen des Höchstwertes	Inotrope Wirkung Höchstbetrag	Betrag 30 Sek. nach Reizbeginn unmittelbar	Abnahme in Teilen des Höchstwertes
30 D	0,58	0,53	0,09	0,24	0,24	0,0
30 E	0,27	0,27	0,0	0,20	0,18	0,10
33 A	0,45	0,33	0,27	0,39	0,39	0,0
37 E	0,98	0,95	0,03	0,54	0,54	0,0
	0,98	0,95	0,03	0,19	0,19	0,0
45 D	1,40	1,16	0,17	0,14	0,10	0,27
50 C II	1,36	1,08	0,20	0,65	0,63	0,03
54 A	0,18	0,12	0,33	1,20	0,90	0,07
55 II	0,14	0,14	0,0	0,73	0,70	0,04

Die Tabelle lehrt, daß offenbar  $\frac{1}{2}$  Minute nach Reizbeginn des N. sympathicus nur eine ganz geringe Abnahme der Höchstwirkungen chrono- und inotroper Art wahrzunehmen ist. In der Mehrzahl der Fälle hat an diesem sehr früh gewählten Zeitpunkt die chronotrope Wirkung bereits mehr von ihrem Höchstwerte eingebüßt als die inotrope. Doch können sichere Schlüsse aus oben dargelegten Gründen aus dieser Tabelle nicht gezogen werden. In den Fällen, in denen die Wirkung längere Zeit, 1 Minute und länger, verfolgt werden konnte,

zeigt die inotrope Wirkung ohne Ausnahme einen trägeren Verlauf, d. h. eine geringere Abnahme als die chronotrope Wirkung.

Wir haben an letzter Stelle noch zu prüfen, wie sich bei den fördernden Erfolgen die chronotropen und die inotropen hinsichtlich ihres zeitlichen Verlaufes gegeneinander verhalten. In dieser Hinsicht scheinen die Kurven zu lehren, daß der Gipfel der verstärkenden Wirkungen in der Regel später als der der beschleunigenden erreicht wird. Nur der Versuch Abb. 20 bildet in dieser Richtung eine Ausnahme. Man wird jedoch gerade hier die vorhin schon als Deutungsschwierigkeit erwähnten Zusammenhänge zwischen Frequenz und Schlaggröße beachten müssen. Hat der beschleunigende Erfolg seinen Höchstwert überschritten und beginnt das Herz wieder langsamer zu schlagen, so kann natürlich allein hierdurch eine Vermehrung der Schlagstärke bewirkt und ein Ansteigen verstärkender Erfolge vorgetäuscht werden. Ein ganz bestimmtes Urteil kann also über diesen Punkt nicht abgegeben werden.

#### *Zusammenfassung:*

Durch die Auffaserung des Vagusstammes nach *v. Skramlik* gelingt es in vielen Fällen, rein hemmende und rein fördernde Stämmchen zu erhalten, während bei Reizung des ganzen Stammes oder anderer (gemischter) Bündel wechselnde Kombinationen beider Erfolge erzielt werden. Eine Zerlegung in Fasern, die rein chronotrop oder rein inotrop wirkten, gelingt dagegen nicht.

Das Studium der Kontraktionskurven lehrt, daß der Vagus eine Verfrühung der Diastolen bewirkt, die Systolen also verkürzt; auch setzt die Diastole plötzlich ein als bei unerregten Nerven. Der Vagus veranlaßt außerdem eine Verlangsamung der Zusammenziehung, die Anstiege werden flacher (negativ klinotrope Wirkung). Mit Sicherheit ist anzunehmen, daß der Vagus die Erschlaffungs- (distrahierenden) Vorgänge begünstigt und verstärkt; ob er auch den Vorgang der Zusammenziehung hemmt, kann nicht mit Sicherheit entschieden werden.

Der *N. accelerans* bewirkt eine Beschleunigung der Kontraktion, die in einem steileren Anstieg der Kurve zur Erscheinung kommt (positiv klinotrope Wirkung). Auch ist in vielen Fällen die Kontraktion zeitlich verlängert. Letzteres trifft jedoch nicht immer zu; vielmehr erscheint oft auch die Erschlaffung beschleunigt. Dies hängt vermutlich nicht davon ab, daß der *Accelerans* die distrahierenden Vorgänge direkt antriebe, sondern die Erschlaffung wird indirekt dadurch verstärkt, daß ein höherer Kontraktionsgrad erreicht worden ist.

Durch Erregung der sympathischen Nerven kann der Zustand des Herzens auch in tiefergehender und dauernder Weise geändert werden; es gelingt, erschöpfte, sich kaum merkbar kontrahierende Herzteile zu deutlichen und guten Zusammenziehungen zu veranlassen; auch ist

es mir in einigen Fällen gelungen, ein nicht mehr schlagendes Herz wieder zum Schlagen zu bringen.

Eine kurvenmäßige Darstellung des zeitlichen Verlaufes der verschiedenen Wirkungen lehrt, daß die beiden hemmenden Wirkungen ungleich verlaufen: beim Abklingen hört die chronotrope Wirkung relativ früh auf, während die inotrope meist weit länger nachdauert. Der Verlauf der fördernden Wirkungen ist noch beträchtlich langsamer als der der inotropen Hemmungen. Auch hier schwindet der chronotrope Erfolg früher als der inotrope.

Die Zeiten, nach denen die verschiedenen Wirkungen ihren Höchstbetrag erreichen, wurden bei verschiedenen Herzen stark wechselnd gefunden, was sich mit den von *Trendelenburg* untersuchten Verhältnissen der Summation in Zusammenhang bringen läßt.

Meinem hochverehrten Lehrer *von Kries* möchte ich auch an dieser Stelle für die Anregung zu dieser Arbeit, die Anteilnahme daran und die mannigfach gewährte Unterstützung meinen besten Dank sagen. Ebenso bin ich *von Skramlik* für seine Hilfe und methodischen Ratschläge zu Dank verpflichtet.



{(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Halle.)

## Untersuchungen zur Physiologie der räumlichen Tastempfindungen unter Berücksichtigung der Beziehungen des Tastraumes zum Sehraume.

### II. Mitteilung.

Von

Privatdozent Dr. phil. et med. **Ernst Gellhorn**,  
Assistent am Institut.

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Juni 1922.)

Die Beziehungen des Tastraumes zum Sehraum sind außerordentlich enge. Es geht dies nicht allein aus der entwicklungspsychologischen Forschung<sup>1)</sup> hervor, sondern zeigt sich noch besonders deutlich, wenn die Verwertung räumlicher Gesichtseindrücke schwer beeinträchtigt ist<sup>2)</sup>. Trotz der Einheitlichkeit unserer Raumwahrnehmung bestehen dennoch erhebliche Diskrepanzen zwischen den räumlichen Empfindungen und Vorstellungen, die von dem gleichen Reiz durch verschiedene Sinnesorgane ausgelöst werden. Die Beziehungen zwischen der Größenschätzung durch Bewegungsempfindungen und -Vorstellungen und durch Gesichtswahrnehmungen sind in der ersten Mitteilung dargelegt worden<sup>3)</sup>. Ebenso konnte die Schärfe des Ortssinnes der Haut mittels taktiler Empfindungen und Vorstellungen verglichen werden mit der Genauigkeit, mit der eine Versuchsperson lediglich durch Gesichtsvorstellungen die Lage eines gereizten Druckpunktes wiederfindet. Interessant sind auch die neueren Untersuchungen *Lohmanns*<sup>4)</sup> zur absoluten Tiefenlokalisation. Doch soll eine weitere Erörterung der Literatur an dieser Stelle unterbleiben, da ich an anderem Orte<sup>5)</sup> kritisch auf die ganze Frage eingegangen bin.

Zweck der vorliegenden Mitteilung ist es, festzustellen, inwieweit durch den Raumsinn der Haut im Verhältnis zur Raumwahrnehmung durch das Auge verschiedene Auffassungen extensiver Größen ver-

<sup>1)</sup> *William Stern*, Zeitschr. f. angew. Psychol. **2**. 1909. — *Bühler*, Die geistige Entwicklung des Kindes. Jena 1919.

<sup>2)</sup> Vgl. *Gelb* und *Goldstein*, Zeitschr. f. Psychol. **83**, 1. 1919.

<sup>3)</sup> *Gellhorn*, Arch. f. d. ges. Physiol. **189**, 215. 1921.

<sup>4)</sup> *Lohmann*, Arch. f. Augenheilkunde **88**, 16. 1921.

<sup>5)</sup> *Gellhorn*, Zeitschr. f. d. ges. Neur. u. Psych. **72**, 267. 1921.

mittelt werden. Für einfache Distanzen sind wir in dieser Hinsicht durch die Untersuchungen von *Fitt*<sup>1)</sup> unterrichtet. Es fragte sich nun, inwieweit wir durch den ruhenden Tastsinn auch komplizierter gebaute geometrische Formen wahrzunehmen imstande sind. Doch wollten wir uns nicht mit der rein qualitativen Feststellung, unter welchen Bedingungen bestimmte geometrische Figuren<sup>2)</sup> erkannt werden, begnügen, sondern die Verhältnisse quantitativ studieren, um so gleichsam die physiologischen Grundlagen einer Elementargeometrie des Tastsinnes zu bestimmen.

In der vorliegenden Mitteilung wird untersucht, inwieweit der ruhende Tastsinn die Erkenntnis des Winkels vermitteln kann, den zwei auf die Haut aufgelegte Schenkel miteinander bilden und welchem Schwinkel der jeweilige Tastwinkel entspricht. Dabei wird der rechte Winkel eine besondere Berücksichtigung erfahren. In einer weiteren Mitteilung wird die Unterschiedsschwelle für Tastwinkel in ihrer Abhängigkeit von der Größe des Winkels, sowie die Geradheitsschwelle und die Bedingungen des taktilen Parallelitätseindruckes untersucht werden.

#### Methodik.

Nachdem ich mich anfangs mit gutem Erfolg eines rein behelfsmäßig konstruierten Winkelmessers bedient hatte, ließ ich folgenden kleinen Apparat anfertigen, der in Abb. 1 wiedergegeben ist. Der Apparat<sup>3)</sup> besteht aus einem

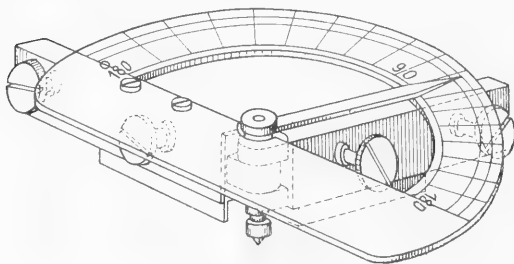


Abb. 1.

in Winkelgrade eingeteilten Transporteur, an dem eine in der Nulllinie fixierte und eine um den Kreismittelpunkt drehbare Messingplatte befestigt ist. Beide Messingplatten tragen je eine mit Schrauben verstellbare dünne Lamelle, die dünne Messingplatten von 0,2 mm Dicke und beliebiger Länge fixieren. Durch wenig Handgriffe kann also

die Schenkellänge des Reizwinkels variiert werden, oder der Winkel kann auch durch Einsetzen entsprechender Ersatzteile teilweise oder ganz durch Punktdistanzen ersetzt werden. Die Hand, bzw. der Unterarm wird durch eine geeignete Unterlage fixiert. Die Länge der Schenkel beträgt 25 mm. Die Kanten

<sup>1)</sup> Arch. f. d. ges. Psychologie **32**, 420. 1914.

<sup>2)</sup> Hierüber hat Herr Geheimrat *Ziehen* gründliche Untersuchungen durch *Karl Schulze* (Gestaltwahrnehmung von drei und mehr Punkten auf dem Gebiete des Hautsinnes. Langensalza 1921) anstellen lassen (Dissertation. Halle 1921). Die Einsichtnahme in die Arbeit wurde mir durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Geheimrat *Ziehen* noch vor dem Erscheinen möglich. Die vorliegenden Untersuchungen waren aber bereits abgeschlossen.

<sup>3)</sup> Zu beziehen durch den Universitätsmechaniker *Paul Polikeit*, Halle a. S.

des Apparates sind von dem Scheitelpunkt je 6 mm entfernt. Der Scheitelpunkt selbst berührt nicht die Haut, so daß strenggenommen nicht ein Winkel die Haut berührt, sondern vielmehr zwei Seiten, deren Verlängerungen sich in einem bestimmten Winkel schneiden.

#### *Allgemeine Vorbemerkungen.*

Bei simultaner Darbietung beider Schenkel ist für die meisten Versuchspersonen die Beurteilung der Winkelgröße eine so schwierige Aufgabe, daß Winkel von 40° oder 130° häufig nicht als spitz bzw. stumpf erkannt werden. Es ist deshalb bei allen Versuchspersonen die sukzessive Darbietung der Schenkel vorgezogen worden. Dabei wird der erste Schenkel stets in der Längsachse des Armes aufgelegt; nach 2—4 Sekunden wird der zweite Schenkel aufgesetzt, während der erste Schenkel unverändert liegen bleibt. Nach abermals 2—3 Sekunden wird der Winkel abgehoben. Bei allen Versuchspersonen wird jeder Winkel zweimal hintereinander dargeboten, da nach einmaliger Darbietung ein sicheres Urteil, ob der Winkel spitz, stumpf oder recht sei, oft nicht abgegeben werden konnte. Nur bei Vp. Ha., deren Tastsinn zweifellos am feinsten ausgebildet ist, genügte fast immer die einmalige Applikation des Reizwinkels. Die Verwendung von Pappe oder ähnlichem Material für die Schenkel des Winkels, das von anderen Autoren<sup>1)</sup> zur Untersuchung des Raumsinnes der Haut herangezogen wird, um das Auftreten von Temperaturempfindungen zu vermeiden, erwies sich als unzweckmäßig, da wir mit sehr schmalen (0,2 mm starken) Kanten arbeiten müssen, um eine sichere Winkelvorstellung zu erhalten.

Für die Untersuchung der Erkennung von Winkeln durch den ruhenden Tastsinn — es wurde stets streng darauf geachtet, daß feine Tastbewegungen (Tastzuckungen) von der Versuchsperson nicht ausgeführt wurden — wurden drei Hautbezirke benutzt: 1. rechte Hohlhand; 2. rechter Handrücken; 3. rechter Unterarm in seinem am meisten distal gelegenen Bezirk.

An der Hohlhand wird der erste, in der Längsachse des Armes liegende Schenkel stets auf dem Hypothenar so aufgesetzt, daß der Scheitelpunkt des Winkels proximal gelegen ist. Ist der Winkel spitz, so verläuft also der zweite Schenkel etwa in der Richtung nach dem Grundgelenke des zweiten oder dritten Fingers, ist er recht oder stumpf, so geht seine Richtung nach dem Daumenballen. Die Applikation des Reizwinkels auf dem Handrücken war erheblich schwieriger, weil die geringere Muskulatur des Handrückens und seine individuell sehr verschieden starke Wölbung es sehr erschwerten, die Schenkel des Reizwinkels der Haut in ihrer ganzen Länge gut anzupassen. Es wurde

<sup>1)</sup> Ziehen.

deshalb, je nachdem welcher Hautbezirk des Handrückens günstiger ist, bald die radiale bald die ulnare Hälfte zu den Versuchen benutzt, im übrigen aber auch hier wieder gleichmäßig verfahren, indem zuerst der in der Längsachse des Armes befindliche Schenkel aufgelegt und der Scheitelpunkt stets proximal gewählt wurde. Am Unterarm wird der erste Schenkel in der Längsachse an der ulnaren Seite aufgelegt. Auch hier liegt der Scheitelpunkt des Winkels stets proximal.

Mit Ausnahme der Vp. Ei., deren Konfiguration des Handrückens ein einigermaßen gleichmäßiges Aufliegen der Schenkel des Winkelapparates unmöglich machte, wurden bei allen Versuchspersonen die Versuche in der Reihenfolge: Hohlhand, Handrücken, Unterarm (Volarfläche) vorgenommen. An jedem Versuchstage wird jeder Winkel ein- bis zweimal gegeben; die Reihenfolge ist dabei völlig unregelmäßig. Die Fortführung der Versuche während 10—15 Tagen für jeden der drei Hautbezirke gestattete es, mittels der Vollreihenmethode die Schwellenwerte zu berechnen und dadurch festzustellen, welchem Winkel an jedem der drei Hautbezirke die Vorstellung des rechten Winkels entspricht.

Bei den Versuchen mußte peinlichst darauf geachtet werden, keine lokale Ermüdung der Haut herbeizuführen. Aus diesem Grunde mußte die Zahl der täglichen Versuche auf höchstens 20—25 Winkel beschränkt werden. Dabei gingen wir stets in der Weise vor, daß der Winkel niemals an genau derselben Stelle aufgesetzt wurde; vielmehr wurde darauf geachtet, daß der folgende Winkel mit seinem ersten Schenkel gegen den vorhergehenden mit einer Verschiebung von einem oder mehreren Millimetern aufgesetzt wurde.

Was die Intensität des Druckes anlangt, so konnte von einer auf mechanischem oder elektrischem Wege erreichbaren Gleichmäßigkeit deshalb abgesehen werden, weil die Stärke des Druckes, die bei den einzelnen Versuchspersonen zur Wahrnehmung des Reizwinkels notwendig war, außerordentlich variierte. Bei Vp. Ha. z. B. genügte ein sehr geringer Druck, wie er durch leichtes Aufsetzen des Winkelapparates erzielt wurde, stets zur Erkennung des Winkels. Stärkeres Aufsetzen des Reizwinkels wirkte schon sehr störend durch das gleichzeitige Auftreten von Schmerzempfindungen. Andererseits zeigte sich die Vp. Ei. bei Anwendung des gleichen Druckes völlig außerstande, den Reizwinkel wahrzunehmen. Vielmehr mußte der Winkel so stark aufgesetzt werden, daß deutliche Spuren auch nach Fortnahme des Reizwinkels auf der Haut fortbestanden. Zwischen diesen beiden Extremen bewegen sich die Drucke, die bei den übrigen Versuchspersonen angewendet wurden. Maßgebend für die Intensität des Druckes war ebenso wie für die Dauer der Berührung der Haut mit den Schenkeln und das Intervall zwischen dem Aufsetzen des ersten und des zweiten Schenkels

lediglich das Bestreben, für jede Versuchsperson die individuell verschiedenen optimalen Versuchsbedingungen herzustellen, sowie beide Schenkel mit gleichem Druck aufzusetzen.

### *Versuche.*

Es wurden stets sogenannte Vollreihen angewendet, d. h. die Größe der Reizwinkel bewegte sich in einem so großen Intervall, daß die extremen Winkel stets (in 100%) richtig, d. h. als spitz bzw. stumpf erkannt wurden. Je mehr die Winkelgröße sich dem rechten näherte, nahm die Zahl der „Spitz-“ bzw. „Stumpf“-Urteile ab. Die Angabe der Versuchsperson, der Winkel sei rechtwinklig oder unsicher, wird relativ selten gemacht. Es hat sich deshalb als zweckmäßig erwiesen, die Zahl der Urteile: „unsicher“ oder „rechtwinklig“ zu gleichen Teilen auf die Zahl der „spitzen“ bzw. „stumpfen“ Urteile zu verteilen. Die Zahl der „Stumpf“-Urteile ergibt sich aus den Tabellen durch Subtraktion der Prozentzahl der „Spitz“-Urteile von 100%. In den Abbildungen gibt die Ordinate die Prozentzahl der „Spitz“-Urteile, die Abszisse die Größe der Reizwinkel an. Dieselben umfassen die Winkel von 50 bis 120 oder 130° mit je 5° Differenz zwischen den einzelnen Winkeln. Die Zahl  $n$  beträgt für jeden Winkel 25.

Die ausgezogenen Linien geben die Kurven der Hohlhand, die — — — stammen vom Handrücken, die fein gestrichelten von dem Unterarm (Volarfläche).

Die Sicherheit des Urteils und seine Güte kommen in objektiver Weise in den Kurven auf zweierlei Weise zum Ausdruck. Einmal in der Stetigkeit der Kurve, d. h. in ihrem Fehlen von sogenannten Unrichtigkeiten, die z. B. darin bestehen, daß für einen stumpferen Winkel sich mehr „Spitz“-Urteile finden als für den nächst spitzeren. Zweitens darin, daß der Winkelbezirk zwischen dem in 100% richtig (spitz) erkannten Winkel und dem Winkel, der in 0% für spitz gehalten wird, sehr eng ist. Wären die Werte, die wir von der Versuchsperson erhalten, ideal, d. h. bestände eine vollständige Übereinstimmung zwischen dem Reizwinkel und der Vorstellung, die die Versuchsperson mittels des Tastsinnes erhält, so müßte in der Abbildung bei 85° der Winkel in 100% für spitz, bei 95° in 100% für stumpf gehalten werden. Es ergäben sich dann für den Winkel von 90° 50% „Spitz“- und 50% „Stumpf“-Urteile. Der Bezirk von 0—100° „Spitz“-Urteile umfaßt also nur 10 Winkelgrade.

Bearbeiten wir nach diesen beiden Kriterien den Kurvenverlauf (vgl. Abb. 2—5) an den verschiedenen Bezirken der Haut bei den einzelnen Versuchspersonen, so zeigt sich bei allen völlig übereinstimmend, daß die Kurven der Hohlhand am stetigsten verlaufen. Unrichtigkeiten fehlen an ihnen völlig, während sie sich an den Kurven des Handrückens und Unterarms mehr oder minder ausgeprägt finden. Auch

nach dem zweiten Kriterium erweisen sich die Hohlhandkurven als die besten. Bezeichnen wir den Bezirk, der zwischen dem Reizwinkel liegt, bei dem in 100%, und jenem, bei dem in 0% der Fälle das Urteil „spitzer Winkel“ abgegeben wird, für jede einzelne Versuchsperson und jede untersuchte Hautzone in Graden, so ergibt sich folgendes:

Vp.	Hohlhand	Handrücken	Unterarm
Ha. . . .	75°—95° = 20°	75°—105° = 30°	75°—110° = 35°
Schi. . .	70°—100° = 30°	65°—130° = 65°	65°—110° = 45°
Ei. . . .	80°—95° = 15°		60°—125° = 65°
Hi. . . .	55°—70° = 15°	70°—105° = 35°	60°—110° = 50°

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß am Handrücken und Unterarm die Winkel, die zwischen 0 und 100% „Spitz“-Urteile ergeben, einen mindestens 50—75% größeren Bezirk umfassen (Vp. Ha.) (bei den

übrigen Versuchspersonen ist er aber sogar 300—400% größer als an der Hohlhand). Mit diesen objektiven Kriterien der Leistung stimmen die Urteile der Versuchspersonen völlig überein; denn diese geben an, daß die Erkennung der Winkel an der Hohlhand ungleich leichter ist als am Handrücken und Unterarm. Dies zeigt sich auch daran, daß der Druck, mit dem die Schenkel des Reizwinkels auf die Haut aufgesetzt werden, an der Hohlhand am geringsten zu sein braucht. Daß zwischen Handrücken und Unterarm bedeutende individuelle Differenzen vorliegen, die darin zum Ausdruck kommen, daß bei den Versuchspersonen Ha. und Hi. der Bereich der „Spitz“-Urteile am Unterarm weiter ist als am Handrücken, während für die Versuchsperson Schi. das Gegenteil zutrifft, liegt daran, daß die anatomische Konfiguration des Handrückens, wie erwähnt, eine gute Anpassung der Reizwinkel nicht selten verhindert. Wir können deshalb in der Kurve, die wir vom Handrücken erhalten, nicht immer den reinen Ausdruck der Empfindlichkeit des Tastsinnes sehen, sondern müssen berücksichtigen, daß die Tatsache der etwas ungleichmäßigen Applikation des Reizwinkels in ihr zum Ausdruck kommen kann.

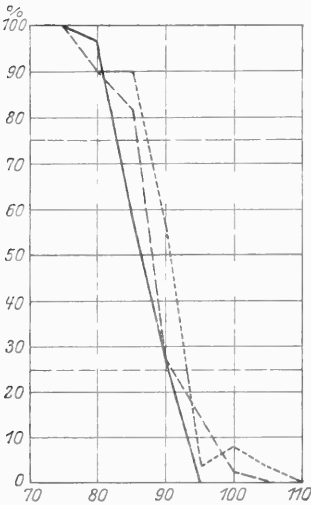


Abb. 2. Vp. Ha.

Abb. 2—5. Auf der Abszisse ist die Größe der Reizwinkel, auf der Ordinate die Prozentzahl der Spitz-Urteile eingetragen. Versuche an der Hohlhand: ausgezogene Kurve, an dem Handrücken gestrichelte Kurve, an der Volarfläche des Unterarms fein gestrichelte Kurve.

halten, nicht immer den reinen Ausdruck der Empfindlichkeit des Tastsinnes sehen, sondern müssen berücksichtigen, daß die Tatsache der etwas ungleichmäßigen Applikation des Reizwinkels in ihr zum Ausdruck kommen kann.

Die Reihenfolge, in der — mit dem besten Hautbezirk beginnend — die verschiedenen Hautzonen die Erkennung von Winkeln zulassen, ist also nach den erwähnten objektiven wie subjektiven Kriterien: Hohlhand, Handrücken, Unterarm. Die Unterschiede zwischen Handrücken und Unterarm sind aber infolge der mehrfach erwähnten ungleichmäßigeren Applikation des Reizwinkels auf dem Handrücken nicht so scharf, wie theoretisch erwartet werden mußte, und daher kommt es gelegentlich (Vp.Schi.) zur besseren Erkennung von Winkeln am Unterarm als am Handrücken.

Von ganz besonderem Interesse ist nun die Frage, ob die erwähnten Hautbezirke nicht nur in der Leistungsfähigkeit, einen durch sukzessive Darbietung der Schenkel gegebenen Reizwinkel zu erkennen, verschieden

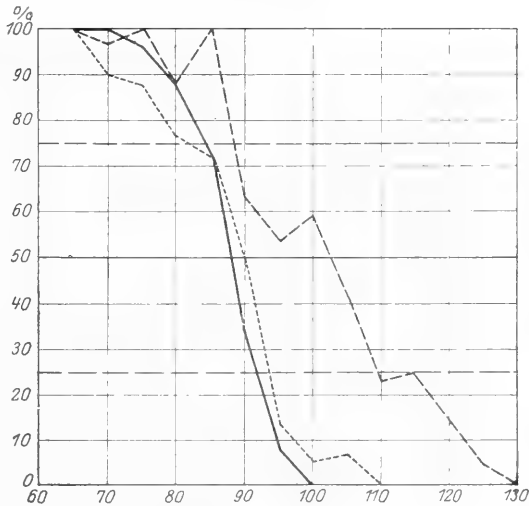


Abb. 3. Vp. Schi.

sind, sondern ob auch die Schätzung der Winkelgröße als solcher eine ungleiche ist und ob sich in der Schätzung Beziehungen zu den übrigen Kennzeichen der Feinheit des räumlichen Tastsinnes, d. h. den simultanen bzw. sukzessiven Raumschwellen ergeben.

Auch hierüber geben die Kurven eine bemerkenswerte Auskunft. Der Winkel, der der Vorstellung des rechten Winkels entspricht, findet sich als Schnittpunkt der Kurve mit der zur Abszisse parallelen Geraden, die durch den Punkt der Ordinate der mit 50 bezeichnet ist, gelegt wird. Denn dieser Schnittpunkt bedeutet, daß für den betreffenden Winkel 50% „Spitz“- und 50% „Stumpf“-Urteile abgegeben werden. Diese Winkel sind für die verschiedenen Versuchspersonen und Hautbezirke die folgenden:

Vp.	Hohlhand	Handrücken	Unterarm
Ha. . .	86	88	90,5
Schi. . .	88	102,5	90
Ei. . .	87,5		92,5
Hi. . .	61	91,5	83,5

Diese Zahlen besagen, daß sämtliche Versuchspersonen die Winkel an der Hohlhand überschätzen. Die Vp. Ha., Schi. und Ei. tun dies

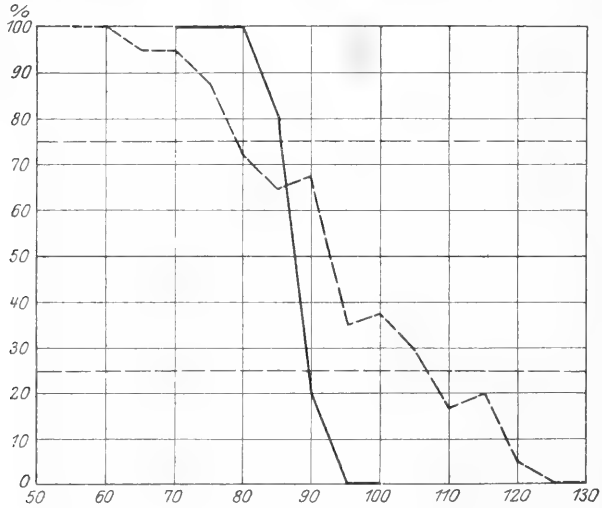


Abb. 4. Vp. Ei.

nur in geringem Grade, da die Abweichung von dem objektiven rechten Winkel nur 2—4° beträgt. Bei der Vp. Hi. findet sich aber eine ganz enorme Überschätzung von 29°.

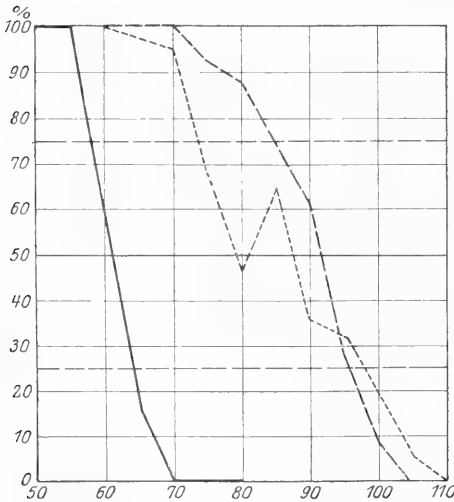


Abb. 5. Vp. Hi.

ersichtlich, daß die Sicherheit des Urteils dieser Vp. nichts zu wünschen übrig läßt. Denn die Ausbreitung der „Spitz“-Urteile beträgt an der Hohlhand nur 15°. Gemeinsam ist ferner allen Versuchspersonen, daß am Unterarm bzw. Handrücken die Überschätzung, so fern sie noch auftritt, wesentlich geringer ist oder aber bei den Versuchspersonen, die bereits an der Hohlhand nur eine geringe Überschätzung zeigen (Vp. Schi., Vp. Ei.) in Richtig- bzw. Unterschätzung übergeht. Dabei ist interessant, wie auch Vp. Hi., die

an der Hohlhand ganz enorm überschätzte, am Handrücken bereits eine geringe Unterschätzung zeigt.



Zur Charakterisierung der Winkelschätzung seien noch folgende Daten aus den Kurven abgelesen:

1. Die Schwelle, die sich aus der Differenz der obigen Zahlen und dem Winkel von 90° ergibt.

2. Die obere und die untere Schwelle, die angeben, bis zu welchem Grenzwinkel wenigstens 75% richtige Urteile abgegeben werden. In der folgenden Tabelle sind wiederum die Differenzen zwischen diesen Winkeln und dem rechten Winkel angegeben.

Vp.	Hohlhand			Handrücken			Unterarm		
	Untere Schwelle	Schwelle	Obere Schwelle	Untere Schwelle	Schwelle	Obere Schwelle	Untere Schwelle	Schwelle	Obere Schwelle
Ha. . .	-7	-4	+0	-4,5	-2	+0,5	-2,5	+0,5	+3,5
Schi. .	-6	-2	+2	-2	+12,5	+22	-8	+0	+3,5
Ei. . .	-4,5	-2,5	-0,3				-11	+2,5	+27
Hi. . .	-32	-29	-26	-6	+1,5	+5,5	-16,5	-6,5	+7

Aus dieser Tabelle ist folgendes zu ersehen:

Die Überschätzung durch die Hohlhand kommt nicht allein durch die negativen Vorzeichen der Schwellenwerte zum Ausdruck, sondern ganz besonders auch dadurch, daß auch die obere Schwelle, d. h. der Winkel, der in 75° der Fälle stumpf geschätzt wird, fast immer kleiner als 90° bzw. (Vp. Ha.) 90° ist. Am Handrücken hingegen fällt die obere Schwelle stets in das Gebiet der stumpfen Winkel. Eine Entscheidung, ob an dem Handrücken oder an dem Unterarm stärker unterschätzt wird, kann generell nicht gegeben werden. Das wechselnde Verhalten der Versuchspersonen hängt wohl mit der ungenügend gleichmäßigen Applikation des Reizwinkels am Handrücken zusammen. Versuche, in denen die Schenkel durch Berührung der Haut an zwei Punkten gegeben werden, sollen hierüber Klarheit schaffen. Immerhin glauben wir, daß auch aus diesen Versuchen mit hoher Wahrscheinlichkeit hervorgeht, daß zwischen der Hohlhand, mit der stets Überschätzung und dem Unterarm, mit dem fast ausnahmslos Unterschätzung erfolgt, der Handrücken mit annähernd richtiger Winkelschätzung gelegen ist. Jedenfalls zeigt Vp. Ha., deren besonders feiner Raumsinn in der Sicherheit des Urteils, der Ansprechbarkeit auf sehr geringe Druckreize ebenso wie in der sehr geringen Ausdehnung des zwischen unterer und oberer Schwelle gelegenen Bezirkes zum Ausdruck kommt, die stärkste Überschätzung an der Hohlhand, eine geringere am Handrücken, endlich eine geringe Unterschätzung am Unterarm. So ist ohne weiteres aus Analogie zu den Versuchen *Fitts*<sup>1)</sup> anzunehmen, daß stets individuelle Unterschiede sich zeigen werden, von welchen Hautbezirken

<sup>1)</sup> *Fitt*, Arch. f. d. ges. Psychol. **32**, 420. 1914.

Überschätzung bzw. Unterschätzung erfolgt. Braucht doch nach den Versuchen dieses Autors selbst bei ein und derselben Versuchsperson während einer längeren Versuchsreihe die Schätzung, die durch die Tastempfindungen vermittelt wird, nicht konstant zu bleiben. Vielmehr kann aus der Unterschätzung eine Richtigschätzung oder sogar Überschätzung entstehen. Maßgebend allein ist die Feinheit der Raumschwelle der Haut. Bezirke mit relativ feinem Raumsinn führen zu Überschätzung (Hohlhand), solche mit hoher Raumschwelle (Unterarm) zu Unterschätzung. Die Größe der Überschätzung bzw. der Unterschätzung unterliegt sehr starken individuellen Differenzen, wie der Vergleich der Vp. Hi. und Schi. z. B. an der Hohlhand deutlich zeigt. Sie kann nicht etwa als Maßstab der Feinheit des Raumsinnes gelten, wie denn überhaupt die Bedeutung obiger Zahlen stärker durch den Vergleich mit den von derselben Versuchsperson an anderen Teilen der Haut erhaltenen Werten in Erscheinung tritt, als wenn sie zu den individuell stark variablen Werten anderer Versuchspersonen in Beziehung gesetzt werden. Wenn auch die Raumschwelle an einem bestimmten Bezirk der Haut bei zwei Versuchspersonen an zwei bestimmten Stellen der Haut völlig übereinstimmen kann, so braucht doch die Schätzung der Größe von Punktdistanzen oder von Winkeln nicht annähernd übereinzustimmen. Die Verarbeitung ein und desselben Reizes durch die Sinnesorgane von zwei verschiedenen Versuchspersonen muß auch bei gleicher Empfindlichkeit (gleiche Raumschwelle) der perzipierenden Sinneselemente deshalb zu verschiedenen Vorstellungen führen, da an der Entstehung derselben Erinnerungsbilder usw. mitwirken, die in hohem Maße als Ausdruck der während des individuellen Lebens erworbenen Erfahrung angesehen werden müssen.

Die vorliegenden Versuche suchten wir noch durch eine weitere Gruppe von Experimenten zu ergänzen. Wir begnügten uns nämlich nicht mehr mit der Angabe der Versuchspersonen, daß ein Winkel spitz oder stumpf sei, sondern suchten genau zu bestimmen, welcher optischen Winkelgröße der jeweilige durch Tastempfindungen und -vorstellungen gegebene Winkel entspräche. Wird nämlich an einer bestimmten Hautstelle überschätzt, so daß ein spitzer Winkel für  $90^\circ$  gehalten wird, so ist anzunehmen, daß auch jeder spitze Winkel für wesentlich spitzer gehalten wird, als der Reizgröße entspricht. Von besonderem Interesse waren die Versuche auch deshalb, weil bei der Vp. Hi., von der eine so besonders starke Überschätzung erhalten wurde, untersucht werden konnte, ob und in welcher Weise mit zunehmender Größe der Reizwinkel die Täuschung auch bei strenger Unwissentlichkeit des Versuchsverfahrens sich ausgleichen könnte.

Diese Versuche wurden an denselben Versuchspersonen durchgeführt und folgten zeitlich den eben beschriebenen Versuchen. Wir

hatten dadurch den Vorteil, schon recht geübte Versuchspersonen verwenden zu können. Die Applikation des Reizwinkels geschieht in genau derselben Weise, wie oben beschrieben wurde. Zur Einstellung des optischen Winkels, der nach Angaben der Versuchsperson mit dem „taktilen“ Winkel übereinstimmt, bediente ich mich des folgenden Verfahrens. In dem Mittelpunkt des Halbkreises eines in vertikaler Stellung befestigten Transporteurs ist ein Faden befestigt, der über eine Rolle läuft, die über eine zum Durchmesser des Transporteurs parallele Holzleiste gleitet. Der Versuchsleiter verschiebt nun auf dieser Seite die Rolle, damit auch den Zwirnfaden und ändert hierdurch den Winkel, den der Faden mit dem horizontalen Radius des Transporteurs bildet. Die Versuchsperson gibt an, wann der Faden die richtige Stellung hat, und nunmehr liest der Versuchsleiter die Größe des Winkels an der der Versuchsperson abgekehrten Seite des Transporteurs, der die Kreiseinteilung trägt, ab. Die Bewegung der Rolle und des Fadens wird, um jede suggestive Beeinflussung unmöglich zu machen, von dem Versuchsleiter bei abgewandtem Blick durchgeführt. Die Reihenfolge, in der die Winkel aufeinander folgen, ist wiederum eine völlig unregelmäßige. An jedem Versuchstage wird nur jeder Winkel einmal gegeben. Dieser Versuch wird für jeden Hautbezirk 5 oder 6 Tage lang ausgeführt. Der aus diesen Tagen berechnete Mittelwert wird den Kurven zugrunde gelegt.

Eine derartige Berechnung des Mittelwertes ist aber nur dann statt-  
haft, wenn die Einzelwerte nicht sehr erheblich variieren. Hier zeigte sich nun bei allen Versuchspersonen, mit Ausnahme von Vp. Ha., daß die variablen Fehler am geringsten an der Hohlhand und am größten am Unterarm sind. Letzteres steht in Übereinstimmung mit der subjektiven Angabe der Versuchspersonen, daß sie keine genaue Vorstellung der Winkelgröße am Unterarm besitzen. Berechnet man den durchschnittlichen Wert des variablen Fehlers für die verschiedenen Hautbezirke, so ergeben sich folgende Zahlen:

Vp.	Hohlhand	Handrücken	Unterarm
Ha. . . .	3,4	3,8	3,0
Schi. . . .	4,6	7,0	10,0
Ei. . . .	5,7	—	9,5
Hi. . . .	5,3	6,3	8,3

Die Verteilung der Größe des variablen Fehlers auf die verschiedenen Reizwinkel ist in Abb. 6 wiedergegeben. Man erkennt hier sofort, daß der mittlere variable Fehler im Bereich des rechten Winkels (85—95°) ein Maximum zeigt. Es ist dies Verhalten ja auch dadurch leicht erklärlich, daß gerade in der Grenzzone die Reizwinkel teils als spitz, teil als stumpf beurteilt werden.

Die großen Werte der variablen Fehler am Unterarm bedingen die Unverwertbarkeit der so erhaltenen Zahlen mit Ausnahme der Angaben der Vp. Ha. Diese sind dadurch bemerkenswert, daß der variable Fehler auf allen drei Hautgebieten fast gleich groß ist. Will man die geringe Verminderung des variablen Fehlers, die sich am Unterarm im Ver-

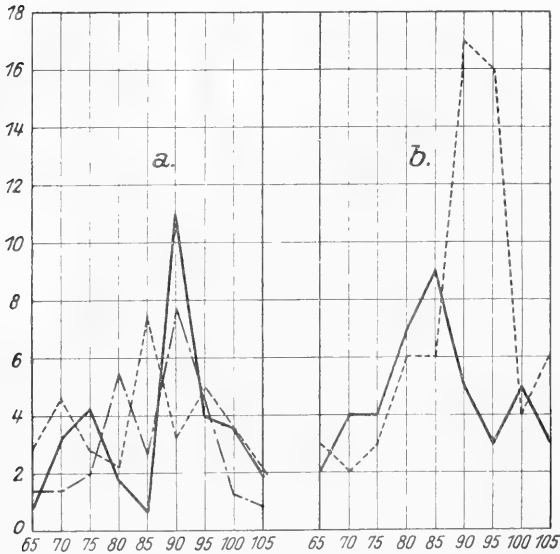


Abb. 6a. Vp. Ha.

Abb. 6b. Vp. Schi.

Abb. 6. Auf der Abszisse ist die Größe des Reizwinkels, auf der Ordinate der mittlere variable Fehler für verschiedene Hautgebiete (— Hohlhand; --- Handrücken; - · - · - Unterarm) eingetragen.

hältnis zum variablen Fehler an der Hohlhand findet, nicht als rein zufällig bewerten, so kann eine Erklärung darin liegen, daß bei dem zuletzt untersuchten Hautgebiet (Unterarm) die Versuchsperson für die Erkennung von Winkeln wesentlich geübter war als im Beginn der Versuchsperiode. Diese Vermehrung der Übung scheint auch die verminderte Raumpfindlichkeit des Unterarms gegenüber der Hohlhand in gewisser Weise ausgleichen zu können. Diese Übungerscheinungen

stehen nicht isoliert da; vielmehr zeigten sie sich an allen Versuchspersonen im Laufe der mehr als 3 Monate währenden Versuche und treten besonders deutlich dadurch in Erscheinung, daß Unrichtigkeiten der Kurven sich allmählich mehr und mehr mindern oder verschwinden. Daß diese Übungsphänomene um so schneller auftreten, je feiner die Empfindlichkeit des jeweiligen Hautbezirkes ist, ist eine durch mannigfache psychologische wie sinnesphysiologische Experimente begründete Anschauung<sup>1)</sup>. Deshalb gelang es auch bei der Mehrzahl der Versuchspersonen nicht, eine Verkleinerung des variablen Fehlers am Unterarm herbeizuführen, während an der Hohlhand eine vermehrte Sicherheit in der Winkelschätzung relativ schnell erfolgte.

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu meine Versuche über die Änderung der Unterschiedsschwelle im Gebiete des optischen Raumsinnes und der Bewegungsempfindungen. Bei ersteren wurde das Übungsmaximum wesentlich früher erreicht als bei letzteren. (Gellhorn, Arch. f. d. ges. Physiol. 189, 170. 1921.)

Tabelle I.

Reiz- winkel in Graden	Hohlhand					Handrücken					Unterarm				
---------------------------------	----------	--	--	--	--	------------	--	--	--	--	----------	--	--	--	--

Vp. Ha.

65	63	62	65	64	63	<b>63</b>	62	60	66	60	67	<b>63</b>	63	62	62	58	61	<b>61</b>
70	65	73	73	75	69	<b>71</b>	72	69	77	62	74	<b>69</b>	70	68	65	67	69	<b>68</b>
75	78	67	76	68	75	<b>73</b>	73	73	72	81	71	<b>74</b>	67	66	72	64	68	<b>67</b>
80	81	80	77	81	77	<b>79</b>	73	68	75	76	72	<b>73</b>	80	68	67	76	65	<b>71</b>
85	78	80	80	80	81	<b>80</b>	77	98	73	84	90	<b>84</b>	78	80	78	70	78	<b>77</b>
90	105	80	99	80	105	<b>94</b>	90	80	90	90	90	<b>88</b>	76	90	90	70	76	<b>80</b>
95	113	100	104	104	97	<b>104</b>	108	112	97	103	98	<b>103</b>	103	101	107	104	90	<b>101</b>
100	114	106	112	105	105	<b>108</b>	107	98	100	108	104	<b>103</b>	102	102	101	100	105	<b>102</b>
105	117	113	115	117	112	<b>115</b>	109	109	102	104	108	<b>106</b>	110	109	109	107	110	<b>109</b>

Vp. Schi.

65	69	65	68	69	74	<b>69</b>	65	67	64	65	55	<b>63</b>
70	74	67	75	64	73	<b>70,5</b>	63	52	57	57	57	<b>57</b>
75	78	66	72	80	75	<b>74</b>	64	66	60	63	74	<b>65</b>
80	79	73	90	65	81	<b>77,5</b>	68	68	63	79	78	<b>71</b>
85	88	96	84	67	99	<b>87</b>	78	61	65	71	78	<b>71</b>
90	103	90	104	108	105	<b>102</b>	77	90	108	60	54	<b>78</b>
95	107	107	110	103	101	<b>107</b>	84	57	90	101	58	<b>78</b>
100	104	102	105	122	108	<b>108</b>	108	99	119	107	108	<b>108</b>
105	111	107	116	109	116	<b>112</b>	108	109	96	112	117	<b>106</b>

Die Zahlen geben die mit dem Reizwinkel gleich groß erscheinenden optischen Winkel an. Die fett gedruckten Zahlen entsprechend den arithmetischen Mitteln, die der graphischen Darstellung zugrunde gelegt sind.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den Abb. 7—10 enthalten. Die graphische Darstellung zeigt nun in Übereinstimmung mit den bisher geschilderten Versuchen, daß von allen Versuchspersonen an der

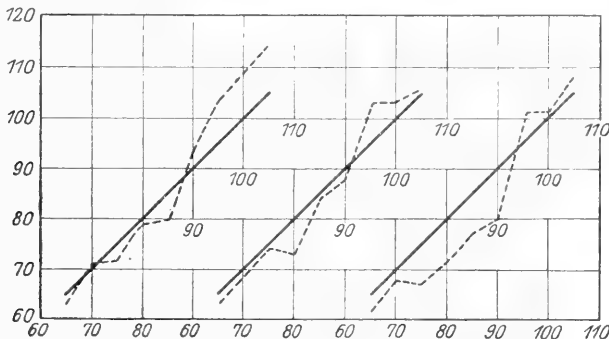


Abb. 7. Vp. Ha.

von links nach rechts: Hohlhand. Handrücken. Unterarm.

Abb. 7—9. Abszisse und Ordinate bezeichnen die Winkelgröße. Die ausgezogene Gerade gibt die Größe der „taktilen“ Reizwinkel an; die gestrichelten bzw. punktierten Kurven geben die entsprechenden arithmetischen Mittelwerte der gleich groß erscheinenden „optischen“ Winkel an.

Hohlhand Überschätzung erfolgt, daß diese am Handrücken oder Unterarm sehr viel geringer ist (Vp. Hi.) oder völliger Unterschätzung weicht. Im speziellen ergeben sich noch folgende bemerkenswerte Einzelheiten.

Die Kurven der Vp. Ha. zeigen an der Hohlhand eine deutliche Überschätzung. Diese betrifft aber die Winkel von 65 bis 115° nicht in gleichmäßiger Weise, sondern die spitzen Winkel werden annähernd richtig geschätzt, während die stumpfen Winkel überschätzt werden. So ergibt sich z. B.

	für den Reizwinkel von 90°	der Winkel	94
„	„	„	104
„	„	„	115

Der Handrücken derselben Versuchsperson liefert annähernd richtige Werte. Natürlich stimmten die von der Versuchsperson angegebenen

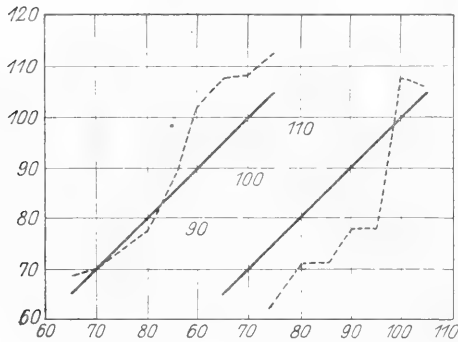


Abb. 8. Vp. Schi.  
von links nach rechts: Hohlhand. Handrücken.

Werte nicht völlig mit den Reizwinkeln überein, sondern zeigen kleine Abweichungen. Die Kurve läßt aber jede Tendenz im Sinne einer Über- oder Unterschätzung vermissen. Hingegen zeigt die Kurve am Unterarm eine deutliche Unterschätzung. Diese erstreckt sich auf die Winkel von 75—90°, während die kleineren und größeren Reizwinkel annähernd richtige Werte ergeben.

Analog sind die Ergebnisse bei den übrigen Versuchspersonen. Nur sind die Abweichungen entsprechend ihrem geringer ausgebildeten Raumsinn größer. So zeigt Vp. Schi. in völliger Übereinstimmung mit Vp. H. eine Überschätzung vorwiegend des rechten Winkels und der stumpfen Winkel an der Hohlhand, während am Handrücken fast sämtliche Winkel unterschätzt werden.

Auch Vp. Ei. zeigt starke Überschätzung an der Hohlhand; nur die Winkel, die kleiner als 80° sind, werden ein wenig unterschätzt. Endlich geht aus den Kurven der Vp. Hi. die schon aus der Lage der Schwelle gefolgerte enorme Überschätzung an der Hohlhand hervor. Handrücken und Unterarm zeigen hingegen nur eine ganz geringe Überschätzung; für eine Reihe von Winkeln besteht sogar eine annähernd richtige Schätzung.

Wir haben bereits oben darauf hingewiesen, daß natürlich von verschiedenen Versuchspersonen mit den gleichen Hautgebieten (z. B. Handrücken) auch aus theoretischen Gründen eine verschiedene Schät-

zung erwartet werden muß. Deshalb sehen wir das Ziel unserer Versuche nicht etwa in der Aufstellung bestimmter Hautbezirke mit Über- und solcher mit Unterschätzung als vielmehr in der Erkenntnis der Tat-

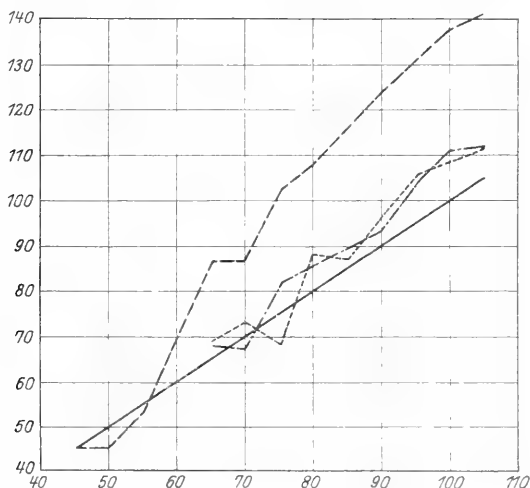


Abb. 9. Vp. Hi. — — — Hohlhand. - - - - Handrücken. - · - · - Unterarm.

sache, daß die Überschätzung geringer wird oder sogar zur Unterschätzung führt, wenn wir von Hautgebieten mit niedriger zu solchen mit relativ hoher Raumschwelle übergehen. Maßgebend für das auf Grund räumlicher Tastempfindungen und -vorstellungen gebildete Urteil, daß ein gegebener Winkel spitz, recht oder stumpf sei, ist also die Größe der simultanen und sukzessiven Raumschwelle.

Noch eine Beobachtung bedarf noch besonderer Erwähnung. Die Vp. Hi. zeigt, wie erwähnt, an der Hohlhand eine ganz außerordentlich große Unterschätzung. Entsprechend der mit  $-29$  errechneten Schwelle für den rechten Winkel zeigt sich auch in den zuletzt geschilderten

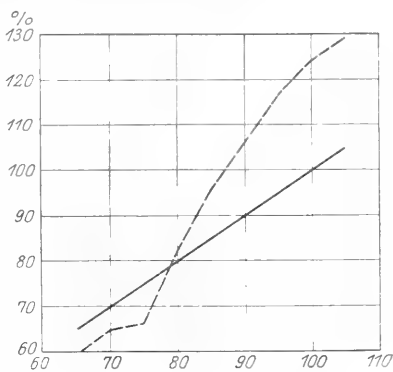


Abb. 10. Vp. Ei. Hohlhand.

Versuchen (Abb. 9) eine mit wachsender Größe des Reizwinkels zunehmende Überschätzung. Sie beträgt bei den Reizwinkeln von 100 und 105° etwa 40°! Nun fragte es sich, ob nicht durch Verwendung noch größerer Reizwinkel die Versuchsperson ihren Fehler — auch bei strenger Geheimhaltung der bisherigen Versuchsergebnisse — erkennen

würde. Das Ergebnis war völlig unerwartet. Es wurden an vier aufeinanderfolgenden Tagen die Reizwinkel von 105–125° gegeben (vgl. Tabelle II). Dabei zeigte sich, daß dem wachsenden Reizwinkel nicht

Tabelle II.

Vp. Hi.

1. Versuchsreihe (Hohlhand).		2. Versuchsreihe.				
Reizwinkel	Arithmetisches Mittel aus 6 Versuchstagen	Es werden an vier aufeinanderfolgenden Tagen nur extreme Reizwinkel gegeben.				
		Reizwinkel	1 Vt.	2 Vt.	3 Vt.	4 Vt.
70	87					
75	103					
80	108					
85	117	105	143	123	131	116
90	124	110	148	135	127	120
95	131	115	152	120	126	124
100	138	120	148	144	148	139
105	141	125	158	147	143	136
3. Versuchsreihe (gekürzt).						
Reizwinkel	Arithmetisches Mittel aus 5 weiteren Versuchstagen					
	30					37
	40					41
	50					57
	60					75
	70					100
	80					97
	90					104
	100					117
	110					128
	120					136
	130					138

in gleichem Maße steigende Winkel angegeben wurden. Vielmehr findet sich für 110 und 120° Reizwinkel in beiden Fällen am ersten Versuchstage der Winkel von 148°. Die Unterscheidung für Größenunterschiede nimmt also mit steigendem Reizwinkel ab<sup>1)</sup>. Ferner zeigt sich, daß bereits bei einmaliger Wiederholung kleinere Winkel angegeben werden. Die Verkleinerung nimmt noch an den folgenden Versuchstagen zu und hat eine dauernde Änderung in der Schätzung der Winkelgröße zur Folge. Die aus fünf weiteren Versuchstagen erhaltenen durchschnittlichen Werte finden sich gleichfalls in Tabelle II. Man sieht, daß auch jetzt noch eine Überschätzung stattfindet, die aber — indem die Versuchsperson gewissermaßen ohne Belehrung über die von ihr gelieferten Ergebnisse durch Verwendung größerer

<sup>1)</sup> Ob für diese Frage das *Webersche* Gesetz Gültigkeit hat, werde ich später erörtern.



Reizwinkel ad absurdum geführt wurde — bedeutend gemindert ist. Dabei ist interessant, daß die Versuchsperson keine sichere Vorstellung über die Art der Schätzung hatte.

Es war eingangs betont worden, daß die Darbietung der Reizwinkel stets sukzessiv erfolgte, weil es anfangs allen Versuchspersonen unmöglich war, die dargebotenen Winkel bei simultaner Reizung selbst in ihren Extremen zu erkennen, oder weil eine Regelmäßigkeit in dem Urteil fast völlig fehlte. Nach Abschluß der bisher geschilderten Versuche suchten wir aber bei der Vp. Ha., die sich durch besonders niedrige Schwellenwerte auszeichnet, festzustellen, ob mit simultaner Reizung eine Änderung in den Schwellenwerten auftritt.

Die Versuchsanordnung war die gleiche wie die im ersten Teil der Arbeit geschilderte. Jeder Winkel wird im Verlaufe von 5 Versuchstagen je zweimal gegeben. Die Dauer der Berührung betrug 1 Sekunde oder weniger. Subjektiv war auch eine bedeutende Zunahme in der Schwierigkeit, den Reizwinkel zu erkennen, vorhanden. Aus der graphischen Darstellung ergeben sich folgende Schwellenwerte:

Hohlhand			Handrücken			Unterarm		
Untere Schwelle	Schwelle	Obere Schwelle	Untere Schwelle	Schwelle	Obere Schwelle	Untere Schwelle	Schwelle	Obere Schwelle
-2,5	+0,5	+3,0	-9	-2	+3	-18	-5	+8

Die Betrachtung der Kurven (Abb. 11) zeigt, daß auch hier wiederum die Beurteilung der Winkelgröße an der Hohlhand am sichersten, am Unterarm aber am unsichersten ist. So weist die Kurve der von der Hohlhand perzipierten Winkel keine Unrichtigkeiten auf, die Kurve des Unterarms zeigt hingegen innerhalb der Reizwinkel von 75—95° sehr starke Unrichtigkeiten. Auch erstreckt sich der Bereich der Winkel, in denen in 0—100% das Urteil „spitz“ abgegeben wird, auf einen Bereich von 15° an der Hohlhand,

- 30° an dem Handrücken,
- 40° am Unterarm.

Ist somit die Parallelität in der Sicherheit des Urteils bezüglich der Erkennung von Winkeln und Fein-

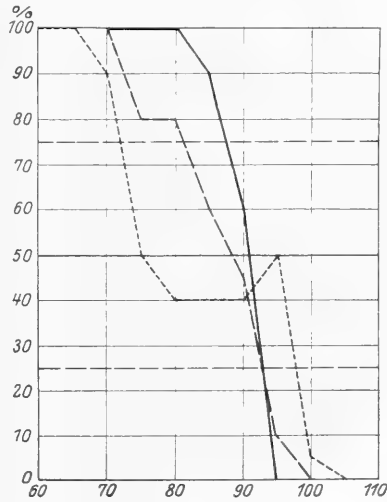


Abb. 11. Auf der Abszisse ist die Größe der Reizwinkel, auf der Ordinate die Prozentzahl der „Spitz“-Urteile eingetragen. Die Versuche sind an Vp. Ha bei simultaner Reizgebung an Hohlhand (—), Handrücken (---) und Unterarm (.....) ausgeführt worden.

heit des Raumsinnes ebenso wie bei sukzessiver Darbietung der Reizwinkel erhalten, so hat die Richtung der Schwellen durch die simultane Reizung eine völlige Umkehrung erfahren. Die Schwelle nämlich, die entsprechend dem zur Hälfte mit „spitz“, zur Hälfte mit „stumpf“ bezeichneten Winkel dem rechten Winkel entspricht, zeigt an der Hohlhand keine wesentliche Abweichung von 0, d. h. an der Hohlhand wird ein Winkel von etwa 90° für einen rechten gehalten. Mit zunehmender Größe der Raumschwelle (Handrücken — Unterarm) tritt zunehmende Überschätzung auf. Eine Erklärung für die paradoxe Tatsache, daß von derselben Versuchsperson an der gleichen Hautstelle, die bei sukzessiver Darbietung der Schenkel des Reizwinkels zur Unterschätzung führt, Überschätzung eintritt, sobald die Schenkel des Reizwinkels simultan dargeboten werden, steht noch aus. Sie kann schwerlich auf physiologischem Gebiete gesucht werden. Entsprechend den bedeutenden quantitativen Unterschieden, die zwischen simultaner und sukzessiver Raumschwelle bestehen, wäre eine erhebliche Änderung des Grades der Über- bzw. Unterschätzung durchaus verständlich. Die Tatsache, daß die Reihe der Hautbezirke nach dem Grade der Überschätzung geordnet bei

a) sukzessiver Reizdarbietung: Unterarm < Handrücken < Hohlhand;  
 b) simultaner Reizdarbietung: Unterarm > Handrücken > Hohlhand  
 lautet, deutet darauf hin, daß vermutlich nicht periphere Faktoren als vielmehr zentrale Vorgänge, die an der Gestaltauffassung wesentlich beteiligt sind, in irgendeiner Weise eine vollständige Änderung erfahren.

Endlich wurde noch an dieser Versuchsperson eine Versuchsreihe am Handrücken und an der Hohlhand während 5 Tagen durchgeführt, in der die Schenkel der Winkel sukzessiv aufgesetzt wurden, der erste Schenkel aber nicht in der Achse des Armes zu liegen kam, sondern eine beliebige, von Versuch zu Versuch wechselnde Lage erhielt. Die Versuchsperson zeigt an dem Transporteur in der oben beschriebenen Weise den Winkel an, der nach ihrer Auffassung mit dem Reizwinkel übereinstimmte. Bei diesen Versuchen trat sofort eine ganz erhebliche Unsicherheit auf, die sich in einer Zunahme des variablen Fehlers kundtat. Der variable Fehler, der in der gleichen Versuchsreihe bei Lage des rechten Schenkels in der Längsachse des Armes nur 3,8 betragen hatte, ist hier zu dem Werte von 8,4 angewachsen. Die Unrichtigkeiten der Kurven lassen eine Berechnung der Schwellenwerte als untunlich erscheinen.

Einige Einzelbeobachtungen seien noch kurz berichtet. Einmal zeigte sich, daß an Hautbezirken mit relativ schlechtem Raumsinn (Unterarm) nicht allein die um den rechten Winkel herum gelegenen Reizwinkel besonders unsicher geschätzt werden, sondern daß dies

auch für die sehr spitzen (ca.  $30^\circ$  oder kleiner) und sehr stumpfen Winkel ( $> 140^\circ$ ) gilt. So erklärte eine Versuchsperson, daß sie bei diesen Werten spitz und stumpf gar nicht mehr zu unterscheiden vermag. Die Versuchsperson nimmt offenbar bei diesen Extremen lediglich wahr, daß die Richtung der Schenkel annähernd die gleiche ist. Ob der Winkel spitz oder stumpf sei, bleibt dann unentschieden.

Das Befragen der Versuchspersonen, wie die Vorstellung des Winkels durch die Berührung der Haut zustande kommt, ergibt, daß an der Hohlhand allgemein die Winkelvorstellung so schnell entsteht, daß die Versuchspersonen über ihr Zustandekommen nichts auszusagen vermögen. Am Handrücken oder Unterarm tritt bei einem Teil der Versuchspersonen eine optische Vorstellung des gereizten Hautbezirkes, auf dem die Lage der Schenkel abgebildet ist, und die Versuchsperson liest gewissermaßen von diesem Vorstellungsbild die Größe des Winkels ab. Daß eine derartige optische Vorstellung im Anschluß an die taktile Reizung auch dort entsteht, wo sie sich introspektiv nicht nachweisen läßt (Hohlhand), wird dadurch wahrscheinlich, daß durch Komplizierung des Versuches, indem der erste Schenkel des Reizwinkels keine zur Achse der Extremität konstante Lage erhält, auch an der Hohlhand das optische Vorstellungsbild entsteht. Interessant ist, daß bei letzteren Versuchen die Versuchsperson bat, die berührte Hand nach Fortnahme des Reizwinkels betrachten zu dürfen, weil es offenbar leichter ist, durch den Ortssinn sich durch Betrachtung der Hand eine Vorstellung von der Lage des Reizwinkels zu verschaffen, als wenn die Versuchsperson gezwungen ist, die Lage der Schenkel in der nur vorgestellten Hand zu beurteilen.

Diese Analyse zeigt, daß an der Erkennung der Reizwinkel in hervorragendem Maße der Ortssinn der Haut beteiligt ist. Die ungleiche Sicherheit der Versuchsperson an verschiedenen Stellen der Haut findet in der ungleichen Feinheit des Ortssinnes ebenso seine Erklärung wie die mit zunehmender Übung wachsende Präzision in der Übarkeit desselben<sup>1)</sup>. Daß aber an manchen Hautbezirken Über-, an anderen Unterschätzung erfolgt, ist in der ungleichen Raumschwelle der Haut begründet. *Aus der Vereinigung taktiler Empfindungen mit den optischen Vorstellungen von der Lage der gereizten Hautpartien wird auf der Grundlage des Raumsinnes der Haut die Vorstellung der Winkelgröße synthetisiert.* Hieraus folgt, daß für die individuellen Variationen nicht nur Verschiedenheiten des Orts- und Raumsinnes der Haut, sondern ebenso der Grad der Visualität der Versuchsperson verantwortlich zu machen sind, ganz abgesehen davon, daß auch für die Auffassung von Winkeln durch den Raumsinn der Haut vielleicht

<sup>1)</sup> Vgl. Gellhorn, Arch. f. d. ges. Physiol. 189, 228. 1921.

jene psychischen Vorgänge eine wesentliche Rolle spielen, die man unter dem Begriff der „Gestaltproduktion“ subsummiert<sup>1)</sup>.

Frl. Dr. *Schiffmann*, Frl. *Hagemann*, Herrn stud. med. *Eisler* und *Hintsche* danke ich für ihre Liebenswürdigkeit, sich mir als Versuchspersonen zur Verfügung zu stellen.

#### *Zusammenfassung.*

Es wird über Versuche an vier Versuchspersonen berichtet, in denen festgestellt wird, inwieweit Unterschiede zwischen dem optischen und taktilen Erkennen von Winkeln bestehen. Die Reizgebung erfolgt durch einen Winkelmesser, der die Variation der Winkelstellung ebenso wie der Schenkelgröße in beliebiger Weise gestattet. Es wird im wesentlichen nur die sukzessive Applikation der Schenkel angewendet. Die Ergebnisse sind folgende:

1. Entsprechend der Feinheit des Raumsinnes der Haut, gemessen an der Größe der simultanen und sukzessiven Raumschwelle, ist die Schärfe des Urteils am größten in der Hohlhand, dann folgt Handrücken, schließlich Unterarm.

2. Auf der Hohlhand wird der Winkel von allen Versuchspersonen überschätzt. Diese Überschätzung wird auf Hautgebieten mit höherer Raumschwelle (Handrücken, Unterarm) geringer, bzw. sie schwindet, oder es tritt sogar Unterschätzung ein. Daher liegt der 90° erscheinende Tastwinkel auf der Hohlhand bei einem Winkel  $< 90^\circ$ , auf dem Unterarm dagegen beträgt er  $> 90^\circ$ .

3. Diese Feststellungen werden in weiteren Versuchen bestätigt, in denen die Versuchsperson den jedem Tastwinkel entsprechenden optischen Winkel anzuzeigen hat. Dabei zeigt sich, daß die Überschätzung (auf der Hohlhand) vornehmlich die Winkel  $> 90^\circ$ , die Unterschätzung auf Unterarm bzw. Handrücken im wesentlichen die Winkel  $< 90^\circ$  betrifft.

---

<sup>1)</sup> Vgl. den Nachweis von Gestaltgesetzen bei dem optischen Parallelitätseindruck: *E. Gellhorn* und *Wertheimer*, Arch. f. d. ges. Physiol. **194**, 535. 1922.

# Beiträge zur Pharmakologie der Körperstellung und der Labyrinthreflexe.

VI. Mitteilung<sup>1)</sup>.

## Über eine Methode zur Lokalisierung der Angriffspunkte verschiedener Arzneimittel auf den vestibulären Nystagmus, mit besonderer Berücksichtigung der Wirkung von Nikotin.

Von

A. de Kleyn und C. Versteegh.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Reichsuniversität Utrecht.)

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. Juni 1922.)

Beim Zustandekommen eines vestibulären Nystagmus läuft bekanntlich der primäre Reflexbogen vom Labyrinth über den N. vestibularis, das vestibulare Kerngebiet und die Augenmuskelkerne nach den Augenmuskeln.

Das Auftreten von Änderungen eines solchen Nystagmus beweist also nicht ohne weiteres, daß dieses Gift für ein Vestibulargift in engerem Sinne gehalten werden muß. Unter Vestibulargift im engeren Sinn verstehen wir nur diejenigen Gifte, welche entweder auf das Labyrinth selbst oder den N. vestibularis oder auf das Vestibularkerngebiet einwirken.

Der Zweck der vorliegenden Untersuchung war, eine Methode auszuarbeiten, welche eine möglichst genaue Lokalisation der Giftwirkung an jeder einzelnen Stelle des vestibulären Reflexbogens zuläßt.

### *Methodik.*

Als Versuchstiere wurden Kaninchen verwendet.

In Äthernarkose wurden die Tiere tracheotomiert und danach künstliche Atmung eingeleitet. Die Vagi wurden durchschnitten um Kreislaufs- und Atmungsstörungen zu verhindern; die Carotiden temporär oder während des ganzen Versuchs unterbunden, das Großhirn entfernt und die MM. externus und internus von einem Auge isoliert. Diese isolierten Muskeln wurden mit Fäden an Hebeln befestigt, welche ihre Bewegungen auf dem Kymographion registrierten (Methode von *Topolanski-Bartels*).

<sup>1)</sup> Die ersten 5 Mitteilungen erscheinen in den *Acta oto-laryngologica* 1922.

Auf diese Weise erhält man ein Tier, mit welchem man ohne weitere Narkose stundenlang experimentieren kann, und bei welchem nach Auslösung eines vestibulären Nystagmus die Augenmuskelbewegungen genau registriert werden können. In allen Versuchen war die Registrierung derartig, daß das Steigen der Kurvenlinie einer Kontraktion der Augenmuskeln entsprach.

Der vestibuläre Nystagmus wurde entweder durch thermische Reizung oder durch Labyrinthextirpation ausgelöst.

Was die Lokalisation einer Giftwirkung auf den vestibulären Nystagmus anbelangt, ist es zum Schluß gelungen, eine Methode auszuarbeiten, mittels welcher es möglich ist, die vier folgenden Angriffspunkte des Reflexbogens vollkommen oder nahezu voneinander getrennt zu untersuchen:

- a) Augenmuskeln,
- b) Augenmuskelkerne,
- c) vestibuläres Kerngebiet,
- d) Labyrinth und Nervus vestibularis.

Diese Methode möge in nachfolgendem für jeden Angriffspunkt einzeln beschrieben werden.

#### a) Augenmuskeln.

Bei diesen Versuchen wurden die Tiere wie oben angegeben vorbereitet und außerdem noch an der Seite der präparierten Augenmuskeln der N. oculomotorius an der Schädelbasis durchschnitten. Auf diese Weise wurde der M. rectus internus vom Zentralnervensystem vollständig getrennt, so daß, wenn nach Verabreichung eines Giftes eine Reaktion (sich äußernd in Kontraktion oder Erschlaffung dieses Muskels) auftritt, daraus geschlossen werden kann, daß das Gift peripher den Augenmuskel selbst angreift.

#### b) Augenmuskelkerne.

Um die Wirkung auf die Augenmuskelkerne isoliert untersuchen zu können, muß die Wirkung auf die Augenmuskeln selbst ausgeschaltet werden. Den Weg hierzu weisen die Untersuchungen von *Wessely*<sup>1)</sup> an, der gezeigt hat, daß bei Kaninchen die Carotiden die praktisch einzigen Blutversorger der Orbitae sind. Werden also die Carotiden während des ganzen Versuches unterbunden, so können die in die Vena jugularis eingespritzten Gifte nicht mehr in die Orbita bzw. in die Augenmuskeln selbst gelangen. Um sicher zu sein, daß nicht trotz der Unterbindung der Carotiden doch noch eine durch abnorme anatomische Verhältnisse (z. B. abnorme Kollateralen) er-

<sup>1)</sup> *Wessely, H.*, Über den Einfluß der Carotisunterbindung auf die Blutversorgung des Auges; nach gemeinsam mit Herrn *Wolf* ausgeführten Untersuchungen. Verhandl. d. Ges. D. Naturforscher und Ärzte. 1908. Siehe auch Münch. med. Wochenschr. 1909, S. 688.

mögliche Wirkung auf die Augenmuskeln selbst der Beobachtung entgeht, wurden die Versuche auf die folgende Weise gemacht:

Die Versuchsanordnung war wie bei a); die Carotiden blieben jedoch während des ganzen Versuchs unterbunden. An den eventuell auftretenden Bewegungen des *M. rectus externus* wurde die Giftwirkung auf die Augenmuskelkerne beobachtet, während der *M. rectus internus*, dessen motorischer Nerv (*Oculomotorius*) durchschnitten war, als Kontrolle einer eventuellen Wirkung auf die Augenmuskeln selbst diente. Trat tatsächlich trotz Unterbindung der Carotiden eine Reaktion des *M. internus* auf, so wurde der Versuch als wertlos betrachtet.

c) und d) *Labyrinth und vestibuläres Kerngebiet.*  
(Vestibuläres Gebiet im engeren Sinne.)

Die bisher geschilderten Wirkungen lassen sich an den Präparaten erkennen, wenn sich dieselben *in Ruhe* befinden. Will man aber die Wirkung eines Giftes, das selbst keinen Nystagmus hervorruft, auf das Vestibulargebiet untersuchen, so muß man dieses zuerst in Tätigkeit versetzen (also einen Nystagmus hervorrufen) und dem Einfluß des Giftes hierauf nachgehen.

Um diese Wirkung *isoliert* untersuchen zu können, mußten entweder solche Gifte verabreicht werden, welche überhaupt keine Wirkung auf die Augenmuskeln und Augenmuskelkerne ausüben, oder andere Gifte in solchen Dosen, welche die genannten Gebiete nicht beeinflussen. Die Wirkung auf die Augenmuskeln selbst kann außerdem noch ausgeschaltet werden durch die Unterbindung der beiden Carotiden.

Ist also auf die hier angegebene Weise die Wirkung eines Giftes auf die Augenmuskeln und die Augenmuskelkerne mit Sicherheit ausgeschlossen worden und treten nach Einspritzung Änderungen eines bestehenden vestibulären Nystagmus auf, so kann hieraus geschlossen werden, daß das Gift im Reflexbogen nur auf das Vestibulargebiet im engeren Sinne eine Wirkung ausüben kann.

Es ist nun die Frage, ob eine noch genauere Lokalisation bezüglich der Wirkung auf das Labyrinth und das vestibuläre Kerngebiet durchführbar ist. Teilweise gelingt dieses, wenn man den vestibulären Nystagmus nebeneinander untersucht erstens bei Tieren mit intakten Labyrinth, und zweitens bei labyrinthlosen Tieren mit dem kompensatorischen vestibulären Nystagmus von *Bechterew*. Diese letztere Form von Nystagmus tritt bekanntlich auf, wenn man bei einem vor einigen Tagen einseitig labyrinthektomierten Tier das andere Labyrinth entfernt. Es tritt hiernach ein Nystagmus auf mit der schnellen Phase nach der zuerst operierten Seite.

Wenn also ein Gift einen Einfluß ausübt auf den von den Labyrinth ausgelösten Nystagmus und den kompensatorischen Nystagmus un-

beeinflußt läßt, so kann daraus mit Sicherheit geschlossen werden, daß das Gift seinen Angriffspunkt im inneren Ohr hat.

Hat man es mit einem Gift zu tun, welches in gleichem Maße den labyrinthären wie den kompensatorischen Nystagmus beeinflusst, so kann angenommen werden, daß der Angriffspunkt sich hauptsächlich im vestibulären Kerngebiet befindet.

Braucht man zum Schluß für die Beeinflussung der beiden genannten Nystagmusformen ganz verschiedene Dosen ein und desselben Giftes, so weist dies darauf hin, daß der Angriffspunkt sowohl im Labyrinth als im vestibulären Kerngebiet lokalisiert werden muß.

Bei sämtlichen hier zu besprechenden Versuchen ist als Gift *Nicotin* zur Verwendung gekommen. Die Veranlassung hierzu bildete eine vor einigen Jahren mit Prof. *Rochat* bei Versuchen mit vestibulärem Nystagmus gemachte Beobachtung. Damals wurde zur Lähmung der sympathischen Ganglien Nicotin intravenös eingespritzt. Dabei ergab sich, daß nach der Einspritzung der vestibuläre Nystagmus verschwand. Bei dem Versuch, diese Erscheinung zu erklären, stellte sich heraus, daß es sich um sehr verwickelte Vorgänge handelt, so daß sich die Notwendigkeit ergab, die oben beschriebene Methode zur Lokalisation der Giftwirkung auszuarbeiten. Als die Untersuchung beinahe beendet war, stellte sich heraus, daß diese zufällige Wahl des Nicotins als Gift in *einer* Hinsicht keine glückliche gewesen war. Bei sämtlichen hier beschriebenen Versuchen ist Nicotin zur Verwendung gekommen aus ein und derselben Flasche, welche im Laboratorium vorrätig war. Dieses Nicotin erwies sich in seiner Wirkung auch bei verschiedener Dosierung konstant. Als nun jedoch dieses Nicotin verbraucht war und für einige ergänzende Versuche neues Nicotin angeschafft werden mußte, übte dieses letztere in derselben Dosis eine ganz andere Wirkung aus. Es hat sich übrigens später herausgestellt, daß auch andere durch Nicotin verursachte Vergiftungserscheinungen bei der Verwendung von Nicotin verschiedener Herkunft wechselnd sind. Dieses inkonstante Verhalten von Nicotin wird zur Zeit von Herrn Dr. *le Heux* im hiesigen Institut näher untersucht. Wenn es daher auch zweifelhaft bleibt, ob in diesen Versuchen von einer *reinen Nicotinwirkung* gesprochen werden kann, so hat sich doch andererseits herausgestellt, daß das von uns benützte Präparat wegen seiner *mannigfaltigen* und *konstanten* Wirkungen äußerst geeignet war zur genauen Feststellung der Lokalisation der Giftwirkung auf den vestibulären Nystagmus.

### Versuchsergebnisse.

#### 1. *Wirkung von Nicotin auf die Augenmuskeln.*

Versuchsordnung: Kaninchen Äthernarkose, Tracheotomie, Vagi durchschnitten, Carotiden temporär unterbunden. MM. rectus externus und internus von einem Auge präpariert und mit Registrierhebeln verbunden. Großhirnexstir-



pation und Durchschneidung des N. oculomotorius an der Seite des präparierten Auges. Hierauf Äthernarkose abgestellt und Aufhebung der temporären Unterbindung der Carotiden. Einspritzung von Nicotin in eine Vena jugularis.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht der Wirkung von verschiedenen Dosen Nicotin auf die Augenmuskeln.

Tabelle I.

Kaninchen Nr.	mg Nicotin pro kg Tier	Die nach Nicotin auftretenden Reaktionen der MM. rectus externus und internus
10	3	Starke Kontraktion von beiden Augenmuskeln
11	3	Kontraktion von beiden Augenmuskeln.
13	1,5	idem
14	1	idem
15	0,75	idem
17	0,5	Geringe Kontraktion von beiden Augenmuskeln.
18	0,5	idem
36	0,3	idem
35	0,3	sehr geringe Kontraktion von beiden Augenmuskeln
19	0,25	Zweifelhafte Wirkung. Kontraktion?
20	0,2	Keine Reaktion.

Aus dem an dem denervierten M. rectus internus erhobenen Befund geht also hervor, daß Nicotin *peripher* eine Wirkung auf die Augenmuskeln ausübt, welche sich in Kontraktionen dieser Muskeln äußert und auftritt bei ungefähr 0,25 mg pro kg Tier, um mit steigender Dosis stärker zu werden.

Als Beispiel einer derartigen Wirkung möge hier die Abb. 1 von Kaninchen Nr. 36 wiedergegeben werden.

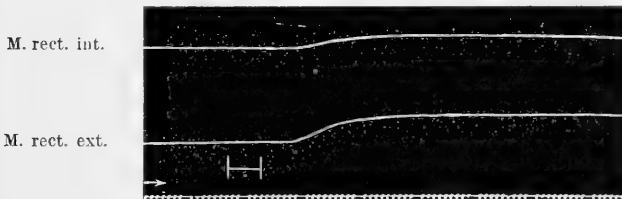


Abb. 1. Kaninchen Nr. 36. Thalamustier. Carotiden offen. Gewicht 1,5 kg. Linker N. oculomotorius intrakraniell durchschnitten. Verzeichnung der Bewegungen der linken Augenmuskeln. Obere Linie — Musculus rectus internus. Mittlere Linie — Musculus rectus externus. Untere Linie — Zeit in Sekunden. Einspritzung von 0,45 mg. Nicotin (0,3 mg pro kg Tier). Die Aufstellung in diesem sowie in allen anderen Versuchen war, wie schon oben bemerkt, eine derartige, daß das Steigen der Kurvenlinie einer Kontraktion der Augenmuskeln entsprach.

## 2. Wirkung von Nicotin auf die Augenmuskelnkerne.

Die Versuchsanordnung war hierbei dieselbe wie bei 1, mit Ausnahme davon, daß die beiden Carotiden bleibend abgebunden waren, um hierdurch eine Wirkung auf die Augenmuskeln selbst auszuschalten.

Die folgende Tabelle gibt das Resultat der Versuche wieder.

*Tabelle II.*

Kaninchen Nr.	mg Nicotin pro kg Tier	Die nach Nicotinverabreichung auftretenden Reaktionen der beiden Augenmuskeln
8	3	Keine Augenmuskelbewegungen
12	3	idem.
57 <sup>1)</sup>	3	Kontraktion von beiden Augenmuskeln.
9	2,5	Keine Wirkung außer einigen kleinen klonischen Kontraktionen des M. rectus externus.
7	2	Keine deutliche Wirkung.
3	1,5	Kontraktion des M. externus. Keine Reaktion des M. internus.
60 <sup>2)</sup>	1,5	Kontraktion von beiden Augenmuskeln.
4	1,5	Kontraktion des M. externus. Keine Reaktion des M. internus.
52	1,5	idem.
1	1	idem.
2	1	Keine Reaktion.
5	0,75	idem.
6	0,75	idem.
16	0,5	idem.
37 <sup>1)</sup>	0,4	Kontraktion von beiden Augenmuskeln.
38	0,3	Keine Reaktion.
39	0,3	idem.

Aus diesen Versuchen geht also hervor, daß Nicotin auch auf die Augenmuskelkerne eine Wirkung ausübt, welche sich ebenso wie die periphere Wirkung in Kontraktionen der Augenmuskeln äußert; die Wirkung beginnt bei 1 mg Nicotin pro kg Tier. Bei 3 mg war keine Wirkung mehr zu beobachten, was wahrscheinlich auf eine Lähmung der Augenmuskelkerne durch diese hohen Dosen zurückgeführt werden muß. Eine genauere Untersuchung mit noch höheren Dosen konnte wegen Mangel an dem bisher benützten Nicotinmaterial nicht durchgeführt werden.

Die Wirkung des Nicotins auf die Augenmuskelkerne veranschaulicht Abb. 2 von Kaninchen 52. Diese Wirkung, welche hier nach Einspritzung von 1,5 mg Nicotin per kg Tier auftrat, äußerte sich darin, daß sich der mit dem Zentralnervensystem verbundene M. rectus externus kontrahierte, während der denervierte M. rectus internus keine Spur von Bewegung zeigte.

<sup>1)</sup> Bei diesem Versuchstiere trat trotz Unterbindung der Carotiden doch noch eine Kontraktion des denervierten M. rectus internus auf, so daß wahrscheinlich infolge abnormer kollateraler Verhältnisse die Unterbindung der Carotiden nicht genügt hat, um eine Wirkung auf die Augenmuskeln selbst zu verhindern.

<sup>2)</sup> Bei diesem Kaninchen ist der N. oculomotorius intakt gelassen, so daß in diesem Fall die „Wirkung auf die Augenmuskelkerne“ sich an beiden Augenmuskeln äußern konnte.

Abb. 3, welche von Kaninchen 39 stammt, zeigt, daß eine Dosis Nicotin von 0,3 per kg Tier zu gering ist, um eine Wirkung auf die Augenmuskelkerne auszulösen. Die unter normalen Umständen bei diesen Dosen auftretende Wirkung auf die Augenmuskeln selbst (siehe Abb. 1) ist durch die Unterbindung der beiden Carotiden ausgeschaltet worden.

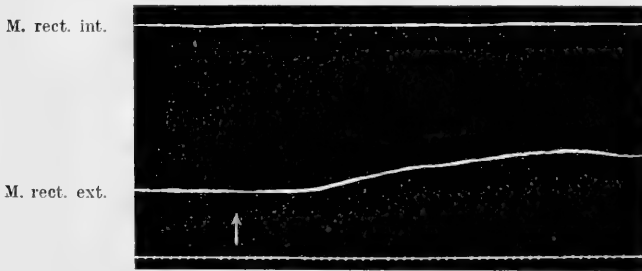


Abb. 2. Kaninchen Nr. 52. Gewicht 1,9 kg. Thalamustier. Carotiden abgebunden. Linker N. oculomotorius intrakraniell durchschnitten. Verzeichnung der Bewegungen der linken Augenmuskeln. Obere Linie: Musculus rectus internus. Mittlere Linie: Musculus rectus externus. Untere Linie: Zeit in Sekunden. Beim Pfeile Einspritzung von 2,85 mg Nicotin (1,5 mg pro kg Tier).

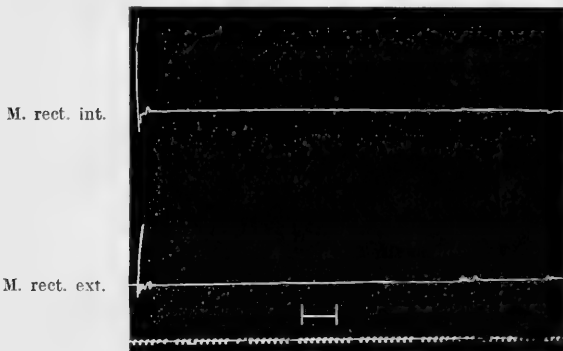


Abb. 3. Kaninchen Nr. 39. Gewicht 1,7 kg. Thalamustier. Carotiden abgebunden. Linker N. oculomotorius intrakraniell durchschnitten. Verzeichnung der Bewegungen der linken Augenmuskeln. Obere Linie: Musculus rectus internus. Mittlere Linie: Musculus rectus externus. Untere Linie: Zeit in Sekunden. Einspritzung von 0,51 mg Nicotin (0,3 mg pro kg Tier).

### 3. Wirkung von Nicotin auf das Vestibularsystem im engeren Sinne. (Labyrinth und vestibulares Kerngebiet.)

Um eine Wirkung auf dieses Gebiet isoliert zu untersuchen, muß, wie schon gesagt, die Wirkung auf die Augenmuskeln und die Augenmuskelkerne ausgeschaltet werden. Hierfür wurden einesteiils die Carotiden abgebunden (Ausschalten der Wirkung auf die Augenmuskeln) und andernteils Dosen von weniger als 1 mg pro kg Tier gebraucht (Ausschalten der Wirkung auf die Augenmuskelkerne).

Unter diesen Bedingungen muß eine Wirkung von Nicotin auf einen vestibulären Nystagmus als Wirkung auf das „Vestibularsystem im engeren Sinne“ betrachtet werden.

Als vestibulärer Nystagmus wurde Kaltwassernystagmus benützt; Temperatur des Wassers 15° C; Fallhöhe 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> m.

Tabelle III gibt das Resultat einer Versuchsreihe wieder, wobei darauf geachtet wurde, ob und bei welchen Dosen Nicotin den kalorischen vestibulären Nystagmus beeinflußt.

*Tabelle III.*  
Beeinflussung des Kaltwassernystagmus durch Nicotin.

Kaninchen Nr.	mg Nicotin pro kg Tier	Die nach Nicotinverabreichung auftretenden Reaktionen der beiden Augenmuskeln
30	0,4	Stillstand der beiden Augenmuskeln in Deviationsstellung.
32	0,35	idem.
29	0,3	idem.
34	0,3	idem.
48	0,3	idem.
33	0,3	idem.
45	0,3	Keine deutliche Reaktion.
46	0,3	Stillstand der beiden Augenmuskeln in Deviationsstellung <sup>1)</sup> .
53	0,3	idem.
26	0,2	idem.
27	0,2	Stillstand des primär erschlafften Muskels in erschlafftem Zustand; die schnelle Erschlaffung des primär kontrahierten Muskels wird kleiner.
47	0,1	die schnellen Erschlaffungen resp. Kontraktionen (schnelle Phase des Nystagmus) der beiden Augenmuskeln werden kleiner.
49	0,065	idem.
59	0,05	idem.
48	0,025	Keine Reaktion.

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß bei einer Dosis von 0,025 mg Nicotin pro kg Tier überhaupt keine Veränderung des vestibulären Nystagmus auftritt, bei einer Dosis von 0,05 bis 0,1 mg die schnellen Bewegungen der antagonistischen Augenmuskeln (schnelle Phase des Nystagmus) kleiner werden, während bei Dosen von 0,2 bis 0,75 mg die beiden Augenmuskeln in Deviationsstellung still stehen, d. h. der infolge des vestibulären Reizes primär *kontrahierte* Muskel in *kontrahiertem*, und der primär *erschlaffte* Muskel in *erschlafftem* Zustande, während die *schnelle Phase verschwindet*. *Diese Wirkung ist also als reine Wirkung auf das „Vestibulärgebiet im engeren Sinne“ zu betrachten.*

<sup>1)</sup> „Stillstand der beiden Augenmuskeln in Deviationsstellung“ bedeutet, daß der infolge des vestibulären Reizes primär kontrahierte Muskel in kontrahiertem und der erschlaffte Muskel in erschlafftem Zustande stillsteht.

Es wurden auch noch einige Versuche mit höheren Dosen gemacht. Wie schon oben bemerkt, übt Nicotin in Dosen von 1 mg pro kg Tier eine Wirkung auf die Augenmuskelkerne aus, welche sich in einer Kontraktion der Augenmuskeln äußert. Es hat sich nun herausgestellt, daß, wenn man bei *abgebundenen Carotiden* während eines vestibulären Nystagmus die gleiche Dosis Nicotin intravenös einspritzt, die *beiden* Augenmuskeln sofort in *Kontraktion stillstehen*, so daß eine eventuelle Wirkung auf das Vestibulärgebiet im engeren Sinn durch diese doppelseitige Kontraktion nicht zur Geltung kommen kann.

Bei Dosen von 0,75 mg pro kg wurde, wie aus Tabelle II hervorgeht, keine Wirkung auf die Augenmuskelkerne beobachtet; in Übereinstimmung hiermit wurde in einem Teil der Versuche bei Einspritzung von dieser Nicotindosis während eines vestibulären Nystagmus Stillstand der Augenmuskeln in *Deviationsstellung* wahrgenommen. In einem anderen Teil der Versuche trat jedoch Stillstand *beider* Augenmuskeln in kontrahiertem Zustande auf, so daß es den Eindruck macht, daß während eines vestibulären Nystagmus die Augenmuskelkerne schon durch diese Dosis erregt werden können.

Alle die soeben besprochenen Versuche wurden mit *abgebundenen Carotiden* gemacht, wodurch eine Wirkung auf die Augenmuskeln selbst ausgeschaltet wird; arbeitet man dagegen mit offenen Carotiden, so tritt auch schon bei kleineren Dosen (s. Tabelle I) eine Kontraktion der Augenmuskeln auf, infolge der Einwirkung des Nicotins auf die Augenmuskeln selbst. Dies ist die Ursache, daß wenn man bei offenen Carotiden während eines vestibulären Nystagmus kleinere Dosen Nicotin intravenös einspritzt, die oben nachgewiesene Wirkung auf das Vestibulärgebiet im engeren Sinn nicht auftritt, weil die *beiden* Augenmuskeln infolge der *peripheren* Wirkung des Nicotins sofort in kontrahiertem Zustande stillstehen.

Das eben Gesagte möge durch drei Kurven veranschaulicht werden.

Zur Erläuterung dieser Kurven möge folgendes bemerkt werden: Kaninchen 33 (Abb. 4); vestibulärer Nystagmus ausgelöst durch Ausspritzung des linken Gehörganges mit kaltem Wasser. Beide Carotiden während des ganzen Versuches abgebunden. Isolierung des linken Mm. rectus externus und rectus internus. Auf der Kurve sind die Bewegungen des M. rectus externus durch die untere Linie, die des M. rectus internus durch die obere Linie wiedergegeben. Infolge der obengenannten calorischen Reizung sieht man am M. rectus externus langsame Kontraktionen unterbrochen durch schnelle Erschlaffungen, und am M. rectus internus umgekehrt langsame Erschlaffungen unterbrochen durch schnelle Kontraktionen. Die Einspritzung von 0,3 mg Nicotin pro kg Tier ist auf der Kurve mit  $\text{—|—|}$  markiert. Durch die

allgemeine Unruhe des Tieres nach der Einspritzung werden beide Kurvenlinien nach aufwärts verschoben  $\uparrow$ . Gleich danach sieht man die, durch Nicotineinspritzung ausgelöste, typische Reaktion des

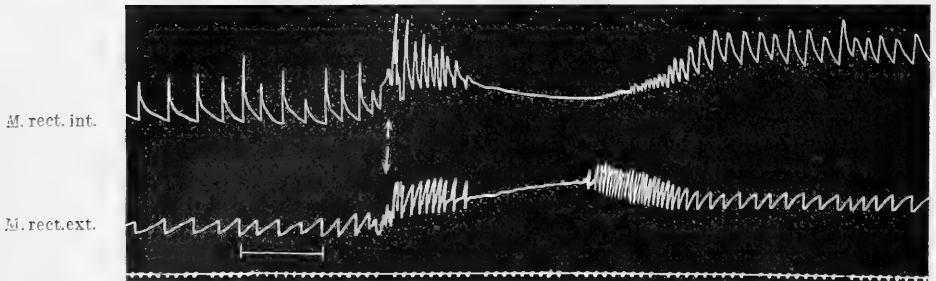


Abb. 4. Kaninchen Nr. 33. Gewicht 4,22 kg. Thalamustier. Carotiden abgebunden. Aufzeichnung der Bewegungen der linken Augenmuskeln. Ausspritzung des rechten Gehörganges mit warmem Wasser. Obere Linie: Musculus rectus internus. Mittlere Linie: Musculus rectus externus. Untere Linie: Zeit in Sekunden. —|—| Einspritzung von 1,26 mg Nicotin (0,3 mg per kg Tier).

„Vestibulärgebietes im engeren Sinn“, welche sich äußert im Aufhören der schnellen Phase des vestibulären Nystagmus mit Stillstand des primär kontrahierten Muskels (in diesem Fall des M. rectus externus) in kontrahiertem Zustand und des primär erschlafften Muskels (in diesem Fall des M. rectus internus) in erschlafftem Zustand. Nach kurzer Zeit tritt wieder Nystagmus in der früheren Form auf.

Auf dieser Kurve ist die Erschlaffung des M. rectus internus stärker ausgeprägt als die Kontraktion des M. rectus externus. Die verschiedenen Versuchstiere verhielten sich in dieser Beziehung wechselnd; bisweilen trat wie in dieser Kurve, die Erschlaffung mehr in den Vordergrund,

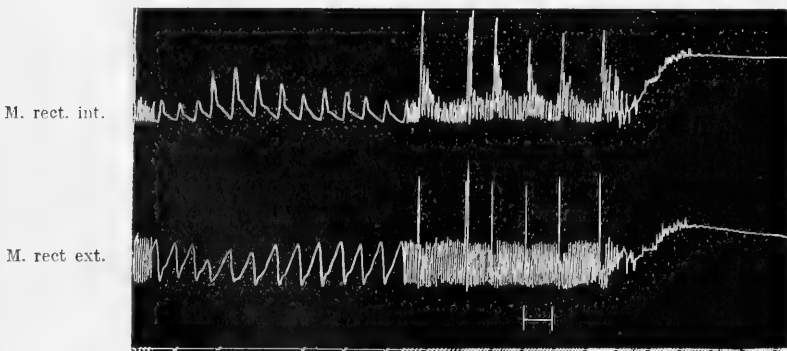


Abb. 5. Kaninchen Nr. 51. Gewicht 1,46 kg. Thalamustier. Carotiden offen. Aufzeichnung der Bewegungen der linken Augenmuskeln. Ausspritzung des linken Gehörganges mit kaltem Wasser. Obere Linie: Musculus internus. Mittlere Linie: Musculus rectus externus. Untere Linie: Zeit in Sekunden. —|—| Einspritzung von 0,438 mg Nicotin (0,3 mg per kg Tier).

in anderen Versuchen war das Umgekehrte der Fall und manchmal waren Kontraktion und Erschlaffung ungefähr gleich stark ausgeprägt.

Kaninchen 51. (Abb. 5.) Die Aufstellung war genau dieselbe wie bei Kaninchen 33 (Abb. 4), mit dem Unterschied, daß die Carotiden während des Versuches *nicht* abgebunden waren. Demzufolge sieht man in diesem Fall die Wirkung des Nicotins auf das „Vestibulargebiet im engeren Sinn“ *nicht* auftreten, da durch den peripheren Nicotineinfluß auf die Augenmuskeln selbst *beide* Augenmuskeln sich nach der Einspritzung sofort kontrahieren und in diesem Zustand stillstehen.

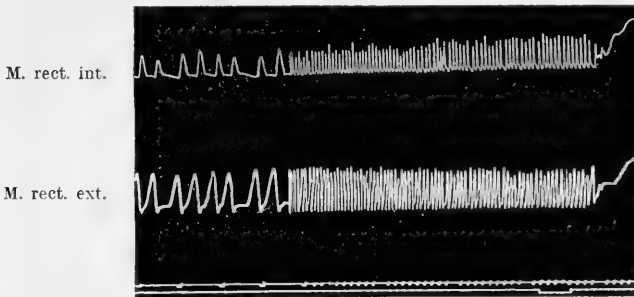


Abb. 6. Kaninchen Nr. 58. Gewicht 1,53 kg. Thalamustier. Carotiden abgebunden. Aufzeichnung der Bewegungen der linken Augenmuskeln. Ausspritzung des linken Gehörganges mit kaltem Wasser. Obere Linie: Musculus rectus internus. Mittlere Linie: Musculus rectus externus. Untere Linie: Zeit in Sekunden. Einspritzung von 2,8 mg Nicotin (1,5 mg per kg Tier).

Kaninchen Nr. 58. (Abb. 6.) Die Aufstellung war genau dieselbe wie beim Kaninchen 33 (Abb. 4), also mit abgebundenen Carotiden. Nach Einspritzung von 1,5 mg Nicotin pro kg Tier gehen beide Augenmuskeln, infolge der Wirkung auf die Augenmuskelkerne, in Kontraktion und hört der bestehende Nystagmus auf.

Zum Schluß muß noch die Frage entschieden werden, auf welchen Teil des Vestibulargebietes im engeren Sinn das Nicotin seine Wirkung ausübt. Hierfür kommen das Labyrinth und das Vestibularkerngebiet in Betracht. Um das Vestibularkerngebiet, mit Ausschaltung des Labyrinths, isoliert untersuchen zu können, muß wie schon früher gesagt, der Einfluß des Nicotins auf den kompensatorischen Nystagmus von *Bechterew* nach doppelseitiger Labyrinthexstirpation näher untersucht werden.

Bei vier Versuchen hat sich nun herausgestellt, daß nach intravenöser Einspritzung von 0,3 mg Nicotin pro kg Tier die Wirkung auf den kompensatorischen Nystagmus sich darin äußert, daß ebenfalls die schnelle Phase des Nystagmus verschwindet und die Augen in Deviationsstellung stillstehen.

Auf Grund der Tatsache, daß die typische Wirkung von Nicotin auf einen vestibulären Nystagmus auch auftritt bei einem Tier, bei

welchem beide Labyrinth entfernt sind, kann geschlossen werden, daß das Nicotin jedenfalls eine Wirkung auf das vestibuläre Kerngebiet ausübt.

Eine isolierte Wirkung auf das Labyrinth selbst könnte nur dann mit Sicherheit angenommen werden, wenn es sich herausstellen würde, daß bei bestimmten Nicotindosen nur auf den normalen und nicht auf den kompensatorischen Nystagmus eine Wirkung nachgewiesen werden könnte. Leider konnte aus Mangel an Nicotin keine neue Versuchsreihe mit verschiedenen Dosen angestellt werden, um diese Frage zu lösen.

Als Beispiel der Nicotinwirkung auf den kompensatorischen Nystagmus möge Abb. 7 dienen.

Aus dieser Kurve 7 geht hervor, daß nach Einspritzung von Nicotin (0,3 mg pro kg Tier) ebenfalls die schnelle Phase des kom-

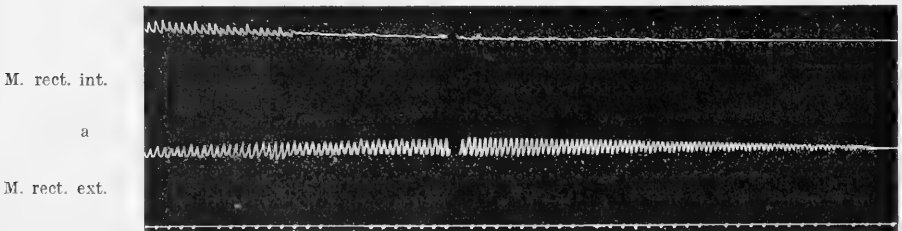
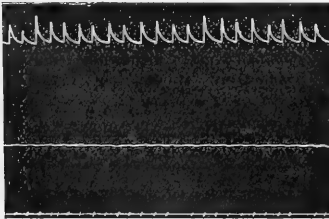


Abb. 7. Kaninchen Nr. 62. Gewicht 1,8 kg. 19. 11. 1921 Labyrinthexstirpation auf der rechten Seite. Der Versuch ist am 24. 11. 1921 gemacht. Thalamustier. Carotiden abgebunden. Aufzeichnung der Bewegungen der linken Augenmuskeln. Labyrinthexstirpation auf der linken Seite. Obere Linie: Musculus rectus internus. Mittlere Linie: Musculus rectus externus. Untere Linie: Zeit in Sekunden. Vom Ende von a bis zum Beginn von b ist eine Pause von 90 Sekunden. 50 Sekunden vor Beginn von a wurde 0,54 mg Nicotin eingespritzt (0,3 mg per kg Tier).

pensatorischen Nystagmus aufhört, während die Augen in Deviationsstellung stillstehen (siehe das Ende von Teil a der Kurve). Bei b ist die Wirkung des Nicotins vorüber und die schnelle Phase zurückgekehrt.



Die Wirkung des Nicotins auf den vestibulären Nystagmus, nämlich das Aufhören der schnellen Phase und Stillstehen der Augen in Deviationsstellung, kann auf zweierlei Weise erklärt werden.

Erstens könnte angenommen werden, daß Nicotin während eines vestibulären Nystagmus einen Reiz auf das Vestibulärgebiet ausübt, in dem Sinne, daß die Deviation der Augen zunimmt und als Folge dieser Deviationszunahme die schnelle Phase des Nystagmus verschwindet.

Daß diese Auffassung Berechtigung hat, beweist der folgende Versuch: Lösen wir durch Ausspritzen eines Gehörganges mit kaltem Wasser



vestibulären Nystagmus aus und verstärken wir die Augendeviation, indem wir den anderen Gehörgang mit *warmem* Wasser ausspritzen (oder umgekehrt), so sieht man, daß die schnelle Phase kleiner wird, bis die Augenmuskeln in starker Deviationsstellung stillstehen (siehe Abb. 8).

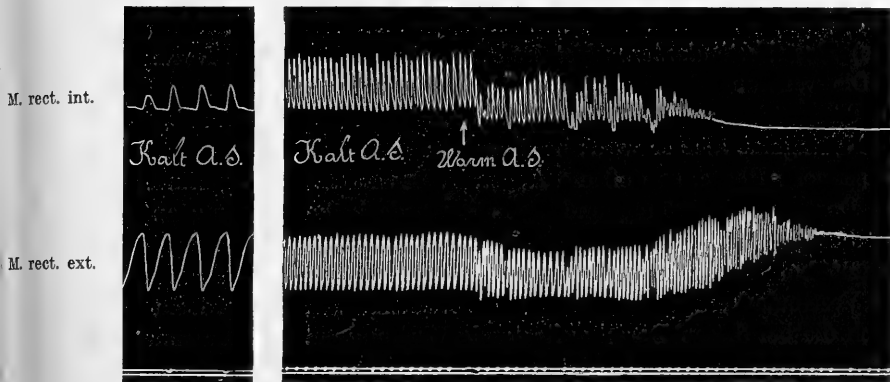


Abb. 8. Kaninchen Nr. 31. Gewicht 2,25 kg. Thalamustier. Carotiden abgebunden. Aufzeichnung der Bewegungen der linken Augenmuskeln. Obere Linie: Musculus rectus internus. Mittlere Linie: Musculus rectus externus. Untere Linie: Zeit in Sekunden. Bei „Warm A. D.“ wird der rechte Gehörgang mit warmem Wasser von 43° C ausgespritzt und bei „Kalt A. S.“ der linke Gehörgang mit kaltem Wasser von 13° C.

Die *zweite* Möglichkeit ist, daß durch das Nicotin an irgendeiner Stelle der Reflexbahn die schnelle Phase des Nystagmus unterbrochen wird. Da über diese Reflexbahn experimentell nur sehr wenig bekannt ist, soll hier auf diese Frage nicht näher eingegangen werden.

### Zusammenfassung.

1. Mit der im vorhergehenden beschriebenen Methode ist es möglich, die Angriffspunkte verschiedener Gifte und Arzneimittel auf den vestibulären Nystagmus näher zu lokalisieren.

Die folgenden Angriffspunkte wurden untersucht:

- a) Die Augenmuskeln selbst.
- b) Die Augenmuskelkerne.
- c) Das Vestibularkerngebiet.
- d) Das Labyrinth.

2. In der vorliegenden Mitteilung wurde die Methode beim *Nicotin* angewandt. Dabei hat sich nach intravenöser Injektion von Nicotin herausgestellt:

- a) *Die Augenmuskeln selbst.*

Nicotin übt eine periphere Wirkung auf die Augenmuskeln selbst aus, welche sich in Kontraktion dieser Muskeln äußert und auftritt bei 0,25 mg per kg Tier und bei steigender Dosis stärker wird.

b) *Die Augenmuskelkerne.*

Nicotin übt auf die Augenmuskelkerne eine Wirkung aus, welche sich ebenso wie die periphere Wirkung in Kontraktion beider Augenmuskeln äußert; die Wirkung fängt bei 0,75 mg per kg Tier an und erreicht ihren Höhepunkt bei 1—2 mg. Bei 3 mg war keine Wirkung mehr zu beobachten, was wahrscheinlich auf eine Lähmung der Augenmuskelkerne durch diese hohen Dosen zurückgeführt werden muß.

c) *Das Vestibularkerngebiet während eines vestibulären Nystagmus.*

Die Wirkung des Nicotins auf das Vestibularkerngebiet in Dosen von 0,05—0,1 mg per kg Tier äußert sich darin, daß die schnelle Phase des Nystagmus kleiner wird; bei Dosen von 0,2—0,75 mg verschwindet die schnelle Phase, so daß die Augen in Deviationsstellung stillstehen. Bei Dosen von 0,025 mg und weniger wurde keine Wirkung auf den vestibulären Nystagmus beobachtet. Bei Dosen von 0,75 mg und höher kommt bei dieser Untersuchungsmethode eine etwaige Wirkung auf das Vestibularkerngebiet nicht zum Vorschein, weil sie verdeckt wird durch die bei diesen Dosen auftretende Wirkung auf die Augenmuskelkerne.

Das obengenannte Verschwinden der schnellen Phase und Verharren der Augen in Deviationsstellung kann erklärt werden durch die Annahme, daß Nicotin während eines vestibulären Nystagmus das Vestibularkerngebiet erregt.

d) *Das Labyrinth.*

Eine isolierte periphere Wirkung von Nicotin auf das Labyrinth konnte nicht festgestellt werden.



*Luchsingers*<sup>1)</sup> und seiner Mitarbeiter bekannt, daß bei der Katze die Schweißnerven anatomisch sympathischen Ursprungs sind; *Langley*<sup>2)</sup> hat diese Befunde bestätigt und im einzelnen ausgearbeitet. Diese augenscheinlich sympathisch innervierten Drüsen werden nun durch parasymphatische Gifte beeinflusst. Beim Menschen nämlich ruft Pilocarpin eine lebhaftere Schweißsekretion auf der ganzen Körperoberfläche, bei Katzen an den Sohlenballen, hervor; Atropin unterdrückt diese Sekretion. Adrenalin dagegen läßt bekanntlich die Drüsen beim Menschen<sup>3)</sup> und bei der Katze unbeeinflusst. Das Pferd, das intensiv schwitzen kann, schwitzt aber auch auf Adrenalineinspritzung<sup>4)</sup> hin und Pilocarpin<sup>5)</sup> zeigt sich bei diesem Tier ebenfalls wirksam im Sinne einer starken Schweißabsonderung. Die Schweißdrüsen des Pferdes reagieren also nach den genannten Autoren auf beide Giftgruppen.

<sup>1)</sup> *Luchsinger, B.*, Die Schweißabsonderung, in Hermanns Handbuch der Physiol. **5**, I. Teil, S. 430. 1883.

<sup>2)</sup> *Langley, J. N.*, a) On the course and connections of the secretory fibres supplying the sweat glands of the feet of the cat. Journ. of physiol. **12**, 347. 1891. b) Further observations on the secretory and vasomotor fibres of the foot of the cat etc. Journ. of physiol. **17**, 296. 1894/95.

<sup>3)</sup> Allerdings hat *Ernst Freund* (Wien. klin. Wochenschr. 1920, Nr. 46, S. 100) bei Untersuchungen mit Adrenaliniontophorese an sich selbst gefunden, daß Adrenalin unter bestimmten Umständen eine Schweißsekretion hervorrufen könne. „Sofort nach Abnahme der Elektrode zeigt sich eine auf das Gebiet der Elektrode beschränkte intensive Blässe. Die Haut ist daselbst elfenbeinweiß, trocken, gelegentlich zeigt sich auch Gänsehautbildung. Nun brachte ich dieselbe Hand in den Heißluftapparat, um das Verhalten der anämischen Hautpartie unter Einwirkung der Wärme zu beobachten. Bei meinem ersten derartigen Versuche konnte ich nun ein auffälliges Verhalten der anämisierten Stelle konstatieren. Nachdem die Wärme einige Minuten eingewirkt hatte, war das noch anämische Gebiet bereits mit dicken Schweißtropfen bedeckt, während die übrige von der Wärme bereits intensiv gerötete Haut kaum anfing, feucht zu werden. Die intensive Schweißabsonderung war scharf auf das anämische Gebiet beschränkt“. Wir haben die Versuche wiederholt und können den Versuch insofern bestätigen als die Möglichkeit eines elektrischen Hereintreibens von Adrenalin vorhanden ist. Das war aber schon früher bekannt. Auch die Gänsehautbildung können wir bestätigen. Eine vermehrte Schweißabsonderung in dem Elektrodengebiet haben wir bei Anwendung von Heißluft nicht finden können. Doch da *Freund* meinte, daß die Fähigkeit zur Schweißabsonderung bei verschiedenen Menschen in sehr ungleicher Weise entwickelt ist, so kann doch erst ein größeres Versuchsmaterial die Frage der Adrenalinwirkung auf die Schweißsekretion bei Heißluft entscheiden.

<sup>4)</sup> *Götze, Richard*, Oszillatorische Blutdruckmessungen an gesunden und Osteomalazie leidenden Pferden. Inaug.-Diss. Dresden 1916, S. 103. Herrn Prof. *Scheunert* sagen wir unseren besten Dank für den Hinweis auf diese Arbeit, die unter seiner Leitung gemacht wurde. b) *Kiichiro Muto*, Über die Wirkung des Adrenalins auf die Schweißsekretion. Mitteilungen aus der med. Fakultät der kais. Universität zu Tokio **15**, 2. Heft, S. 365. 1916.

<sup>5)</sup> Siehe *Luchsinger* S. 426.

Bemerkung zu <sup>4)</sup> und <sup>5)</sup>: Herr Prof. *Langley* hat uns brieflich mitgeteilt, daß nach einem älteren Versuche eines englischen Tierarztes Pilocarpin beim Pferde

Der Frosch, der zahlreiche Hautdrüsen hat, die allerdings wohl andere Funktionen haben werden als die Schweißdrüsen gleichwarmer Tiere, reagiert sowohl auf Adrenalin<sup>1)</sup> als auch auf Atropin<sup>2)</sup> und Pilocarpin<sup>3)</sup> im Sinne einer Produktion oder einer Hemmung der Schweißsekretion.

Auf Grund dieser Befunde über die Wirkungsweise von Adrenalin bzw. Pilocarpin und Atropin auf die Schweiß- bzw. Hautdrüsen äußerte *Heubner*<sup>4)</sup>, die Ansicht, daß die Nerven der Schweißdrüsen pharmakologisch zum konsensuellen (parasymphatischen) Nervensystem gehören, während die Hautdrüsen des Frosches sympathisch innerviert seien.

Wenn wir von der pharmakologischen Fragestellung, deren Bearbeitung zweifellos zur Lösung des Problems der Schweißdrüseninnervation beiträgt, absehen, so bleibt die anatomisch-physiologische Betrachtung dieses Problems zurück. Sie ist von *Luchsinger*<sup>5)</sup> bei der Katze und von *Langley*<sup>6)</sup> bei der Katze und Frosch und von *Brücke*<sup>7)</sup> bei der Kröte zum Studium der Schweiß- bzw. Hautdrüseninnervation herangezogen worden. In neuester Zeit haben dann *Schilf* und Mitarbeiter<sup>8)</sup> dieses Untersuchungsverfahren in Zusammenhang mit der psychogalvanischen bzw. neurogalvanischen Methode gebraucht, die Innervation der

eine Schweißsekretion nicht hervorruft. Er selbst habe keine Versuche am Pferd angestellt. Herr Prof. *Scheunert*, der uns liebenswürdigerweise Auskunft gab, hat jedoch viele Versuche mit Pilocarpin bei Pferden gemacht und kann die Angaben von *Luchsinger* und von *Muto* über die Wirksamkeit des Pilocarpins bestätigen. Die Wirkung von Adrenalin auf die Schweißsekretion kann nicht zentral sein, da sie nach *Muto* auch bei durchschnittenen Nerven auftritt. Dieser Autor hält sie deshalb für peripherisch. Herr Prof. *Scheunert* sprach die Vermutung aus, daß möglicherweise bei Adrenalineinspritzung die glatte Muskulatur der Haut an der Schweißsekretion beteiligt sei.

<sup>1)</sup> a) *Ehrmann, R.*, Über die Wirkung des Adrenalins auf die Hautdrüsensekretion des Frosches. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **53**, 137. 1905; b) *Wastl, H.*, Über die Wirkung des Adrenalins auf die Drüsen der Krötenhaut. Zeitschr. f. Biol. **74**, Heft 1—2, S. 77. 1921.

<sup>2)</sup> a) *Stricker, S.* und *A. Spina*, Untersuchungen über die mechanischen Leistungen der acinösen Drüsen. Wien. med. Jahrb. 1886, S. 355. b) *Schilf, E.* und *A. Schubert*, Über das sog. psychogalvanische Reflexphänomen beim Frosch usw. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **195**, 75. 1922.

<sup>3)</sup> *Drasch, O.*, Beobachtungen an lebenden Drüsen mit und ohne Reizung der Nervenzellen. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1889, S. 131.

<sup>4)</sup> *Heubner, W.*, Ein Vorschlag zur Nomenklatur im vegetativen Nervensystem. Zentralbl. f. Physiol. **26**, Nr. 24, S. 1180. 1913.

<sup>5)</sup> a. a. O.

<sup>6)</sup> a. a. O. und *Langley* und *M. A. Orbelli*, Observations on the sympathetic and sacral autonomic system of the frog. Journ. of physiol. **41**, 450, 1910/1911.

<sup>7)</sup> *von Brücke, E. Th.*, Über die sympathische Innervation der Krötenhaut. Zeitschr. f. Biol. **74**, Heft 1/2, S. 99. 1921.

<sup>8)</sup> a) a. a. O. b) *Hara, Y.*, Der psychogalvanische Reflex bei Katzen und Hunden. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. **195**, 288. 1922.

Schweißdrüsen bei der Katze und die der Hautdrüsen des Frosches klarzustellen bzw. die Erfahrungen, die schon früher gemacht worden waren, nachzuprüfen<sup>1)</sup>.

Eine Vereinigung der pharmakologischen und physiologischen Methode ist dann von *Dieden*<sup>2)</sup> benutzt worden, um die Innervation der Schweißdrüsen zu studieren. Wenn auch die früheren Autoren beide Methoden vereinigt in Anwendung gebracht haben, so glaubten wir *Diedens* Versuchsmethodik besonders anführen zu müssen, weil er auf Grund seiner Beobachtungen wichtige Tatsachen der Schweißdrüseninnervation klargelegt zu haben schien.

Gelegentlich der Studien über den psychogalvanischen Reflex und das neurogalvanische Phänomen — *Gildemeister* nennt neuerdings das psychogalvanische Reflexphänomen den galvanischen Hautreflex<sup>3)</sup> — machten wir einige Feststellungen, die mit den Beobachtungen von *Dieden* nicht zu vereinbaren waren. Wir glaubten daher, uns durch Versuche von der Richtigkeit der *Diedenschen* Resultate überzeugen zu sollen.

*Dieden* ging von der Tatsache aus, daß die meisten Organe, die nicht dem Willen unterworfen sind, eine doppelte Innervation besitzen, eine befördernde und eine hemmende. Für die Schweißdrüsen war nur eine befördernde Innervation bekannt, deren Fasern durch die vorderen Wurzeln das Rückenmark verlassen, dann in dem Grenzstrang weiter verlaufen, um schließlich peripherwärts sich den spinalen Nerven anzuschließen. Der Autor war nun auf Grund seiner Versuchsergebnisse von dem Vorhandensein einer Hemmungsinervation überzeugt. Dieselbe verlief für die Hinterpfote der Katze durch diejenigen hinteren Lumbalwurzeln, die die sensiblen Fasern des Ischiadicus enthalten. Auf die Versuche im einzelnen werden wir weiter unten einzugehen haben. Die Arbeiten *Diedens* sind in den neuesten Lehrbüchern usw. überall berücksichtigt.

<sup>1)</sup> Nach Drucklegung der Korrektur ist noch eine Arbeit von *K. Uyeno* (*The sympathetic innervation of the skin of the toad. Journal of physiol.* **56**, 359-366. 1922) über diesen Gegenstand erschienen. Der Autor hat unter *Langleys* Leitung noch einmal die früheren Arbeiten von *Langley* und *Orbelli* wiederholt und die alten Resultate bestätigt. *Brücke* [siehe unter Nr. 7) der Literaturangabe S. 347] war nämlich bei der Innervation der Hautdrüsen der Kröte zu einem etwas anderen Ergebnis gekommen. Der eine von uns (*Schilf*) hat gelegentlich einer früheren Mitteilung (siehe unter Nr. 2 b der Literaturangabe S. 347) ebenfalls die Befunde von *Brücke* nicht bestätigen können, sondern sich der Ansicht von *Langley* und *Orbelli* angeschlossen.

<sup>2)</sup> *Dieden, H.*, a) Klinische und experimentelle Studien über die Innervation der Schweißdrüsen. *Dtsch. Arch. f. klin. Med.* **117**, 180. 1915. b) Über die Wirkung des Adrenalins auf die Schweißsekretion. *Zeitschr. f. Biol.* **66**, 387. 1916. c) Die Innervation der Schweißdrüsen. *Dtsch. med. Wochenschr.* **49**, 1049. 1918.

<sup>3)</sup> *Gildemeister, Martin*, Der psychogalvanische Reflex. Vortrag, gehalten am 19. V. 1922 vor der physiol. Gesellschaft zu Berlin.

Wir sagten schon oben, daß wir in dieser Arbeit die Versuche *Diedens* nachzumachen beabsichtigen, um dann später in weiteren Mitteilungen die Frage der Schweißdrüseninnervation bis zu ihrem mehr zentral gelegenen Teile zu bearbeiten.

Als wir unsere Versuche beendet hatten, kamen wir durch Zufall in den Besitz von *Langleys* Buch „The Autonomic Nervous System“ (vom Jahre 1921). Hier sahen wir, daß *Langley* die Versuche von *Dieden* zu einem kleinen Teil auch nachgemacht hatte. Da *Langley* in seinem Buche mitteilte, daß er weitere Versuche über dasselbe Thema anstellen würde, schrieb der eine von uns (*Schilf*) im Zusammenhang mit einer anderen hier nicht interessierenden Frage an *Langley*, daß von uns alle Versuche von *Dieden* wiederholt worden seien. Wir teilten weiter *Langley* auf Grund unserer Versuche unsere Ansicht über die von *Dieden* gefundene Hemmungsinnervation der Schweißdrüsen der Katze mit. *Langley* antwortete sofort mit einem Briefe und sandte auch einen Separatabdruck der letzten Nummer des Journal of physiology. Die Veröffentlichung<sup>1)</sup> enthielt das Resultat seiner Nachprüfung der *Diedenschen* Versuche. *Langley* war in seinem Urteil über die Hemmungsinnervation der Schweißdrüsen zu demselben Schluß gekommen, den wir ebenfalls aus unseren Versuchen gezogen, und den wir auch *Langley* mitgeteilt hatten.

Wenn wir trotzdem hiermit unsere speziellen Versuchsergebnisse veröffentlichen, so möchten wir dies in erster Linie deshalb tun, weil wir, wie schon gesagt, weitere Versuche über die Schweißdrüseninnervation hinsichtlich des mehr zentral gelegenen Teiles in Vorbereitung haben. In zweiter Linie gewinnt, so glauben wir, das Resultat durch die Übereinstimmung der Mitteilung von *Langley* und unseren Befunden an Sicherheit.

## B. Methode.

Wir benutzten zu unseren Versuchen Katzen, die für gewöhnlich erst 14 Tage im Käfig gehalten wurden. Wir haben die Beobachtung gemacht, daß die Tiere innerhalb dieser Zeit sich an ihre Umgebung gewöhnten und dann auch das Futter annahmen. Das Innehalten dieser Wartefrist ist vor allem bei solchen Katzen wichtig, die längere Zeit nach einer Operation lebend gehalten werden sollen. Die Nahrungsaufnahme, vor allem von Flüssigkeiten — Milch —, ist wohl für die Erhaltung des Tieres nach einer eingreifenden Operation entscheidend.

Weiter nahmen wir zu unseren Versuchen nur Katzen mit dunkel pigmentierten Fußballen. Man ist bei diesen Tieren besser in der Lage, die Sekretion zu beobachten.

Zu den Einspritzungen von Lösungen unter die Haut oder in die Sohlenballen (in das subcutane Gewebe) zwecks Erreichung einer Schweißsekretion, banden wir die Tiere nie auf. Der Wärter hielt die Katze auf dem Arm. Während

<sup>1)</sup> *Langley, N.*, The secretion of sweat. Part. I. Journ. of Physiol. **56**, 110. 1922.

er es streichelte, konnten wir bequem unsere Injektionen vornehmen, selbst die sicher nicht ganz schmerzlosen in den Sohlenballen der Pfote. Die Tiere bleiben meistens ruhig, und man ist auf diese Weise in der Lage, die Wirkung der Einspritzungen ohne weitere Beunruhigung der Tiere zu studieren.

Zu den Einspritzungen benutzten wir physiologische NaCl-Lösungen, Suprareninum hydrochloricum syntheticum (D. A. B. 5. Farbwerke vorm. Meister Lucius und Brüning) Lösung 1 : 1000, und eine 1proz. Lösung von Pilocarpinum hydrochloricum.

Sämtliche Katzen, die zum Versuch kamen, wurden zuerst einem Pilocarpin-vorversuch unterworfen. Den Tieren wurde 4 mg Pilocarpin unter die Rückenhaut gespritzt, um zu sehen, ob sie überhaupt sichtbaren Schweiß sezernieren. Es gibt nämlich Katzen, die weder auf Pilocarpin noch auf Reizung der zugehörigen Sekretionsnerven mit einer für das Auge wahrnehmbaren Schweißproduktion reagieren. *Langley*<sup>1)</sup> hatte ähnliche Erfahrungen gemacht. Von 30 untersuchten Katzen reagierten 2 nicht auf Pilocarpin. Bei der einen von beiden erhielten wir auch auf Ischiadicusreizung keine Schweißsekretion an der betreffenden Extremität. Auch neurogalvanisch (Methode siehe bei Hara a. a. O.) war ein Galvanometerausschlag nicht zu beobachten<sup>2)</sup>.

Bei der Pilocarpineinspritzung beobachtet man gewöhnlich zuerst Speichelfluß und zwar 2—4' nach der Injektion. Die Tiere fangen zunächst an zu schlucken, um dann auch Speichel aus der Schnauze zu verlieren. Zu gleicher Zeit tritt dann auch eine Schweißsekretion auf, zuerst langsam, nach 5' in kleinen zahlreich auf den Zehen- und Sohlenballen sich zeigenden Perlen. Meist ist der Schweiß zuerst an den Zehenballen zu beobachten und dann erst auf den Sohlenballen.

Hatten wir uns bei den Tieren von der Möglichkeit des Schwitzens überzeugt, so schritten wir in den nächsten Tagen zu den Versuchen, die wir vornehmen wollten.

Die Versuche fanden im Frühjahr im geheizten Laboratorium statt.

### C. Versuche.

a) *Wirkung einer Adrenalineinspritzung in einen Sohlenballen bei erhaltenem und durchschnittenem Ischiadicus.*

Zu den Versuchen spritzten wir gewöhnlich 0,5—1 ccm unserer Adrenalinlösung unter die Haut des Sohlenballens. Die Katze wurde vom Wärter gehalten und nicht aufgebunden.

*Dieden* bezog sich in seiner Arbeit über die Hemmungsinnervation der Schweißdrüsen, deren Nachprüfung das Thema der vorliegenden Arbeit ist, auf einen Befund in einer Veröffentlichung von *Langley*.

Als nämlich *Langley*<sup>3)</sup> die Wirkung des Nebennierenextraktes auf verschiedene Organe studiert hatte, fand er diesen im Sinne einer Vermehrung der Speichelsekretion wirksam, während eine Schweißsekretion selbst bei Einspritzung des Extraktes in einen Sohlenballen nicht eintrat. Er benutzte zu seinen Untersuchungen über die Speichel-

<sup>1)</sup> a. a. O. Journ. of Physiol. 56, 110. 1922.

<sup>2)</sup> Vor kurzem hatte unser Mitarbeiter *Dr. Hera* im Laufe seiner Untersuchungen ebenfalls eine Katze gefunden, die bei Ischiadicusreizung kein neurogalvanisches Phänomen zeigte.

<sup>3)</sup> *Langley, J. N.*, Observations on the physiological action of extracts of the suprarenal bodies. Journ. of physiol. 27, 237. 1901.



sekretion Katzen, denen er eine Submaxillaris-Fistel angelegt hatte und zählte die Tropfen. Das Extrakt gab er gewöhnlich intravenös in die Beinvene. Die beiden zugehörigen sekretorischen Nerven, Chordatumpani und Cervicalsympathicus, hatte er durchschnitten, um auch den Effekt einer peripherischen elektrischen Nervenreizung studieren zu können. *Dieden* glaubte nun, daß, wenn er der Katze die sekretorischen Schweißdrüsenfasern durchschneiden würde, die Schweißdrüsen möglicherweise auch nach einer Adrenalininjektion sezernieren könnten. Aus der Arbeit *Langleys* ging allerdings nicht hervor, daß er die sezernierenden Nerven der Submaxillarisdrüse deshalb durchschnitten hatte, weil er an irgendeine Beziehung zwischen der Wirkung von Adrenalinextrakt und Nervendurchschneidung gedacht hat. Doch hatte der Schluß, den *Dieden* aus der *Langley* schen Arbeit über die Speicheldrüsen zog, was die Schweißdrüsen anbetraf, einige Wahrscheinlichkeit für sich.

*Dieden* fand wie *Langley*, der in der Arbeit auch Versuche über die Wirkung des Extraktes auf die Schweißdrüsen gemacht hatte, daß Adrenalin auch bei Injektion in den Sohlenballen bei intaktem Ischiadicus wirkungslos blieb. Nachdem er aber den Ischiadicus durchschnitten hatte, „war der Erfolg ein prompter. Schon nach wenigen Sekunden trat ganz profuser Schweißerguß auf.“ *Dieden* erklärt sich die Feststellung, daß Adrenalin bei erhaltenen Nerven wirkungslos ist, aber nach Abtrennung der Schweißdrüsen von ihrem nervösen Zentrum wirkt, so, daß im ersten Falle eine Hemmung „durch Einwirkung des Giftes entweder reflektorisch oder durch Einwirkung des Giftes auf die Hemmungszentren des Rückenmarks zustande kommt.“ Diese Hemmungswirkung müsse wegfallen, wenn die Nerven durchschnitten seien oder wenn bei unversehrtem Nerv das Tier tief narkotisiert sei.

Wir beobachteten bei unseren Versuchen folgendes: Es gibt Katzen, die bei noch nicht durchschnittenem Ischiadicus auf eine Adrenalininjektion in einen Sohlenballen gar nicht mit einer Schweißsekretion reagieren. Bei einigen Tieren — unter 10 Katzen waren es 3 — war um die Injektionsstelle herum eine geringe Sekretion zu bemerken. Wischte man den Schweiß weg, so trat nach einigen Minuten doch wieder ein feuchter Glanz der Sohlenballenhaut auf. Wir meinen trotzdem, daß Adrenalin bei erhaltenem Ischiadicus keine oder doch nur eine örtlich um die Injektionsstelle herum sich findende geringe Schweißsekretion hervorruft, deren Stärke in keinem Verhältnis zu der durch Pilocarpin hervorgerufenen steht und deshalb für unsere Versuchszwecke nicht maßgebend sein kann. Wir kommen weiter unten noch einmal auf die geringe und örtlich um die Einstichstelle herum sich findende Schweißsekretion zurück.

Durchschnitten wir den Ischiadicus, — Eingriff in der Glutäalgegend unter aseptischen Vorsichtsmaßregeln in leichter Chloroform-

Äthernarkose, am Tage nach der Operation Fortsetzung des Adrenalinversuches —, so haben wir in *keinem* Falle eine Änderung in der Wirkung des Adrenalins gefunden. Adrenalin, in einen Sohlenballen injiziert, hatte in 10 Fällen einer Ischiadicusdurchschneidung *keine* andere Schweißsekretion hervorgebracht, wie sie auch bei erhaltenem Ischiadicus zu sehen war.

Wir sind mit diesem Versuchsergebnis in Übereinstimmung mit dem von *Langley*. Versuche mit tiefer Narkose sind nach unserer Beobachtung nicht ganz einwandfrei anzustellen. Es kommt schon beim Aufbinden und dann auch zu Beginn der Narkose fast immer zu einer lebhaften Schweißsekretion. Wäre die Pfote aber trotz allem trocken geblieben, wir haben einen solchen Fall nicht beobachtet, so ist eine Schweißsekretion auf Adrenalininjektion auch noch so zu deuten, daß zufällig irgendwelche zentralen Vorgänge, die durch die Narkose hervorgerufen sein können, die Schweißsekretion bedingt haben, und nicht die Adrenalineinspritzung in einen Sohlenballen. Indessen hat *Langley* in seiner letzten Arbeit berichtet, daß eine tiefe Narkose keineswegs die Adrenalinwirkung — starke Schweißsekretion —, die *Dieden* bei tiefer Narkose erreicht hat, zustande brachte. Das Tier schwitzte nicht.

Wir nehmen an, daß bei den Katzen, die *Dieden* benutzte, wahrscheinlich Kreislaufänderungen, durch die Nervendurchschneidung und Narkose bedingt, zu den von dem Autor gemachten Beobachtungen geführt haben. Darauf läßt vielleicht auch besonders die Feststellung schließen, die *Dieden* angestellt hat, daß nämlich 6 Tage nach der Ischiadicusdurchschneidung eine nicht mehr profuse, sondern nur noch geringe Sekretion durch örtliche Adrenalinwirkung zu erzielen war<sup>1)</sup>.

Aus unseren Versuchen konnte nicht geschlossen werden, daß eine Hemmungsinnervation der Schweißdrüsen besteht, da Durchschneidung der Nerven die Wirksamkeit der Adrenalinalgabe nicht änderte.

b) *Wirkung einer Einspritzung von physiologischer Kochsalzlösung in einen Sohlenballen bei erhaltenem und durchschnittenem Ischiadicus.*

*Dieden* hatte aus Vergleichsgründen Kochsalzlösungen unter die Haut gespritzt und gefunden, daß die Lösung eine Schweißsekretion nicht hervorrief.

<sup>1)</sup> Nach Fertigstellung des Korrekturbogens schickte uns Herr Prof. *Langley* den zweiten Teil seiner Arbeit über die Schweißdrüsensekretion zu (The secretion of sweat. Part. II. The effect of vaso-constriction and of adrenaline, [zusammen mit *K. Uyeno*]. Journal of physiol. Bd. 56, 206. 1922). Aus der Arbeit geht hervor, daß Änderungen in der Blutversorgung der Schweißdrüsen Unterschiede in der Stärke der Schweißproduktion hervorbringen. Sie können aber doch nicht ganz die so auffälligen Unterschiede zwischen den Resultaten von *Dieden* und denen von *Langley* und uns erklären.

Wir fanden, daß viele Tiere nach einer Einspritzung von 1 cem — NaCl-Lösung um die Injektionsstelle herum örtlich gering schwitzten. Bei einigen Tieren — von 13 waren es 7 — war diese Schweißsekretion sogar stärker als bei den Tieren, die auf eine Adrenalineinspritzung um die Einstichstelle herum mit einer Schweißproduktion reagierten. Wir gingen dabei so vor, daß wir einer Katze in den linken Sohlenballen Adrenalin, in den rechten NaCl-Lösung spritzten. Es läßt sich dann bei genauem Hinsehen der Unterschied wahrnehmen. Eine beiderseitige Ischiadicusdurchschneidung änderte nichts an dem Befunde. Man muß allerdings darauf vorbereitet sein, daß die örtliche Schweißsekretion an den verschiedenen Tagen sehr wechselnd auftritt, und so ist es sehr gut möglich, daß *Dieden* zufällig auf Kochsalzeinspritzung keine Schweißsekretion gesehen hat. Wir stimmen also mit *Dieden* überein, daß NaCl-Lösung keine oder doch nur eine geringe um die Injektionsstelle herum auftretende Schweißsekretion zur Folge hat. *Langley* hatte ähnliche Beobachtungen gemacht und schloß weiter, daß die örtliche Schweißsekretion auf Adrenalin nicht eine Adrenalinwirkung wäre, sondern durch das Lösungsmittel bedingt sei.

c) *Adrenalinversuche bei durchschnittenen hinteren Wurzeln und neurogalvanische Versuche.*

Aus seinen Adrenalinversuchen sah sich *Dieden* im Gegensatz zu den späteren Befunden von *Langley* und uns veranlaßt, Hemmungsnerven für die Schweißinnervation anzunehmen. Und es lag nahe, diese Nerven weiter zu verfolgen. Da die sekretorischen Fasern mit den Vasoconstrictoren verlaufen, setzte er die Hemmungsfasern mit den Vasodilatoren in Analogie. Durchschneidung der hinteren Wurzeln des Plexus lumbosacralis mußte die Hemmung verschwinden lassen, die Katze müßte jetzt auf eine örtliche Injektion von Adrenalin in die Sohlenballen ebenso schwitzen wie vorher bei durchschnittenem Ischiadicus. Tatsächlich trat nach seinen Angaben bei den Katzen, denen der Autor die hinteren Wurzeln des unteren Dorsal- und des Lendenmarkes durchschnitten und in den betreffenden Sohlenballen Adrenalin injiziert hatte, „starker Schweiß auf, der vorne völlig ausblieb. Bei Reizung der hinteren Wurzeln schien der Schweiß bei den drei bis jetzt in dieser Richtung angestellten Versuchen zu versiegen“.

Wir wiederholten auch diese Versuche. Zur Durchschneidung der hinteren Wurzeln einer Seite wurden die Versuchstiere mit einer Äther-Chloroformmischung betäubt und der Rückenmarkskanal unter aseptischen Vorsichtsmaßregeln in einer Länge von ungefähr 10 cm in Höhe der in Betracht kommenden Wurzeln freigelegt. Dann wurde die Dura gespalten und alle freiliegenden hinteren Wurzeln wurden durchschnitten. Uns standen 5 Katzen zu dieser Operation zur Ver-

fügung. Ein Tier starb in der Narkose, ein zweites am Tage nach der Operation, ein drittes war durch den Eingriff an beiden Hinterextremitäten motorisch gelähmt. Die anderen zwei Tiere haben den Eingriff überstanden. Wir fanden 3 Tage nach der Operation, daß sowohl das gelähmte Tier als auch die beiden anderen lebenden Katzen auf eine Adrenalineinspritzung in die Pfote sich nicht anders verhielten als normale Tiere. Starker Schweiß trat nie auf. Alle drei Tiere wurden dann getötet und sezirt. Wir zählten die Wurzeln von der ersten Wurzel zwischen Schädel und Atlas anfangend aus, um uns zu überzeugen, daß auch tatsächlich die hinteren Wurzeln, die zum Ischiadicus laufen, durchschnitten worden waren. Wir hatten keinen Grund, eine Reizung der hinteren Wurzeln vorzunehmen, um eine eventuelle Hemmung der Schweißsekretion zu beobachten, da eine Adrenalineinspritzung keine oder nur eine geringe örtliche Schweißsekretion um die Injektionsstelle herum hervorgerufen hatte.

An vier Katzen machten wir weiter folgenden Versuch, wie er auch von *Langley* zum Nachweis einer eventuell in den hinteren Wurzeln verlaufenden Hemmungsinervation ausgeführt worden ist. In tiefer Chloroform-Äthernarkose legten wir in Höhe des unteren Lenden- und des Sakralmarkes das Rückenmark frei. Dann gaben wir dem Tier 4 mg Pilocarpin. Es trat an allen vier Pfoten eine starke Schweißsekretion auf. Diese suchten wir, wenn wir mit *Dieden* annahmen, daß in den hinteren Wurzeln Hemmungsfasern verlaufen, dadurch zu verhindern, daß wir sie elektrisch reizten. Wir sahen indessen keinen Erfolg der Reizung. Allerdings haben wir nie mehr als zwei Wurzeln auf einer Seite gleichzeitig gereizt. Trotzdem hätte sich doch irgendeine Wirkung an der Pfote, die von den beiden Wurzeln versorgt wurde, zeigen müssen. Auch *Langley* hatte die Reizung unwirksam gefunden. Neurogalvanisch hatte eine mäßige Reizung der hinteren Wurzeln auf die Wanderung des Galvanometerspiegels keinen Einfluß. Zum mindesten hätte man annehmen müssen, daß die Wanderungsgeschwindigkeit des Galvanometerspiegels, die bei einem nicht gereizten Tier im Sinne der Widerstandsvermehrung, d. h. im Sinne der Zunahme der Polarisation<sup>1)</sup> zu sehen ist, zunehmen müssen. Dies war aber nicht zu beobachten gewesen. Wohl aber haben wir bei überstarker elektrischer Reizung — Rollenabstand Null eines großen du Bois-Reymondschen Schlitteninduktoriums und ein Akkumulator als Kraftquelle — ein neurogalvanisches Phänomen erhalten. Hieraus könnte man schließen, daß auch in den hinteren Wurzeln Sekretionsfasern verliefen. Aber schon *Luchsinger*<sup>2)</sup> hat bei Anwendung starker Ströme an die Stromschleifen ge-

<sup>1)</sup> *Gildemeister, M.*, Der sogenannte psychogalvanische Reflex und seine physikalisch-chemische Deutung. *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **162**, 489. 1915.

<sup>2)</sup> a. a. O. S. 432.

dacht, so daß wir glauben, daß unser neurogalvanisches Phänomen durch Stromschleifen, die den in der Nähe liegenden Grenzstrang treffen, hervorgerufen wurde. Auf mechanische Reizung der hinteren Wurzeln — Quetschen mit einer Pinzette — war ein neurogalvanisches Phänomen nie zu erzielen, während es doch bei mechanischer Reizung der betreffenden vorderen Wurzeln — untere Brust- und obere Lendenwurzeln — stets zu erhalten ist.

Gegen das Vorhandensein einer Hemmungsinervation spricht auch folgende Beobachtung, die wir gelegentlich von Versuchen über das neurogalvanische Phänomen bei Katzen und Fröschen häufig angestellt haben. Das Tier liegt mit den Hinterpfoten im Stromkreis. Durchschneidet man nun einzeln die hinteren Wurzeln, so müßte jedesmal ein Ausschlag des Galvanometers im Sinne des neurogalvanischen Phänomens auftreten, weil ja eine Hemmungsinervation fortfällt. Wir haben einen Ausschlag des Galvanometers nie beobachten können.

Aus den Versuchen geht hervor, daß wir keinen Grund haben, in den hinteren Wurzeln verlaufende Hemmungsfasern für die Schweißdrüsen anzunehmen. Ihre Innervation ist mit derjenigen anderer unwillkürlich innervierter Organe nicht in Parallele zu setzen. Einen Hemmungs- und einen Beförderungstonus, wie er z. B. beim Herzen oder beim Auge vorhanden ist, gibt es nach unseren Versuchen bei den Schweißdrüsen nicht. Zu ähnlichen Resultaten ist *A. Loewy*<sup>1)</sup> von einer anderen Seite her gekommen. Der Autor stellte die Wasserabgabe fest, die rein physikalisch von der Hautoberfläche stattfindet. Und zwar kamen drei blutsverwandte Personen in Betracht, „die an eigentümlichen ektodermalen Hemmungsbildungen litten und denen im speziellen die Schweißdrüsen und größtenteils auch die Hauttalgdrüsen fehlten“<sup>2)</sup>. Die Menge der Wasserabgabe verglich er mit derjenigen, die normalerweise bei Gesunden gefunden wird, wenn diese einer Temperatur ausgesetzt werden, die keine sichtbare Schweißsekretion zur Folge hat. Es zeigte sich dann, daß die Hautwasserabgabe bei den Gesunden ebenso groß war, wie die der Schweißdrüsenlosen, wenn eine mittlere Umgebungstemperatur und Körperruhe innegehalten wurde. Hieraus schloß *Loewy*, daß „unter allen Bedingungen, die keine stärkere Erwärmung des Körpers verlangen, die Schweißdrüsen untätig sein würden; sie würden nicht perpetuierlich, vielmehr nur temporär tätige Drüsen darstellen“. Hiermit ist ausgesprochen, daß bei der Innervation

<sup>1)</sup> *Loewy, A.* (Berlin), Untersuchungen über die physikalische Hautwasserabgabe. *Biochem. Zeitschr.* **67**, 243. 1914.

<sup>2)</sup> *Loewy, A.* und *W. Wechselmann*, Zur Physiologie und Pathologie des Wasserwechsels und der Wärmeregulation seitens des Hautorgans. *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Pathol.* **206**, 79. 1911.

der Schweißdrüsen ein Tonus der Innervation nicht vorhanden ist. Wir haben ja bei unseren hautgalvanischen Versuchen dasselbe gefunden, wenigstens ergab Durchschneidung der hinteren Wurzeln, in denen nach *Dieden* die Hemmungsfasern verlaufen sollten, keinen Anhalt für die Annahme, daß jetzt der befördernde Tonus überwiege.

Wir schließen also aus den Versuchen dieses Kapitels, daß hemmende Fasern in den hinteren Wurzeln nicht vorhanden sind. Die alte Frage nach dem Vorkommen von Sekretionsfasern im direkten Verlauf der Wurzeln wird in einer weiteren Arbeit, die schon angefangen worden ist, mit Hilfe der hautgalvanischen Methode erörtert werden.

*d) Degenerationsversuche der sekretionsbefördernden Fasern.*

*Goltz*<sup>1)</sup> und später *Pearce*<sup>2)</sup> haben nachgewiesen, daß bei Durchschneidung und Degeneration des Ischiadicus in dem betreffenden Gebiet zuerst die Vasoconstrictoren absterben und dann die Dilatatoren. Die ersteren sterben beim Hunde innerhalb von 6 Tagen ab. Reizt man also nach dieser Zeit den Ischiadicus, so kommt es nicht zu einer Gefäßverengung, sondern zu einer Erweiterung der Gefäße. Inwieweit aus einem derartigen Versuche auf ein Vorhandensein gefäßerweiternder Fasern im üblichen Sinne, die bei dem Versuch noch nicht degeneriert sind und infolgedessen gereizt wurden, geschlossen werden kann, lassen wir hier unberücksichtigt.

*Dieden* glaubte aus diesen Versuchen ähnliche Umkehrwirkungen bei der Innervation der Schweißdrüsen vermuten zu dürfen. Er durchschnitt deshalb bei einer Katze den Ischiadicus und wartete einige Tage, bis eine Reizung des peripherischen Nervenendes keine Schweißsekretion hervorrief. Dann gab er Pilocarpin; das Tier schwitzte jetzt an allen 4 Pfoten. Reizte er aber das peripherische Nervenende, so versiegte der Schweiß. Mit diesem Versuch glaubte *Dieden* die Hemmungsfasern gereizt zu haben, da ja die sekretionsbefördernden Nerven abgestorben seien.

Bei der Nachprüfung des Versuches stießen wir auf einige Schwierigkeiten, die ein endgültiges Resultat nicht zustande kommen ließen. Durchschnitten wir den Ischiadicus und warteten wir einige Tage, bis eine Reizung des peripherischen Stumpfes keine Schweißsekretion mehr hervorrief, so fanden wir, daß auch die Wirkung einer Pilocarpininjektion, die unter die Rückenhaut vorgenommen wurde, so gering war, daß man quantitative Beobachtungen nicht gut machen konnte.

<sup>1)</sup> *Goltz, Fr.*, Über gefäßerweiternde Nerven. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 9, 174. 1874 und 11, 52. 1875.

<sup>2)</sup> *Pearce, R. G.*, Studien über antagonistische Nerven. Zeitschr. f. Biol. 62, 243. 1913.

Wir haben 5 Versuche mit Degeneration der sekretorischen Nerven angestellt. Ein sicheres Urteil läßt sich aber aus diesen Versuchen nicht gewinnen.

### E. Zusammenfassung.

Unsere Versuche haben folgendes ergeben:

1. Adrenalin, in den Sohlenballen eingespritzt, hat sowohl bei erhaltenem als auch bei durchschnittenem Ischiadicus keine oder nur ganz geringe Wirkung im Sinne einer Schweißsekretion.

2. Durchschneidung der hinteren Wurzeln ergibt keine Änderung des unter 1. angegebenen Befundes.

3. Neurogalvanische Versuche sprechen gegen das Vorhandensein von Hemmungsfasern.

4. Degeneration schweißbefördernder Fasern in Verbindung mit Pilocarpinversuchen kann kaum als Methode zum Nachweis schweißhemmender Fasern benutzt werden.

Wir glauben aussprechen zu dürfen, daß wir auf Grund unserer Versuche eine Hemmungsinnervation, die im Ischiadicus und in den hinteren Wurzeln verlaufen sollte, nicht annehmen können.

---

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Halle a. S.)

## Befruchtungsstudien.

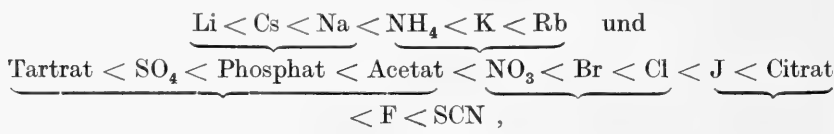
### I. Mitteilung.

Von

Privatdozent Dr. phil. et med. Ernst Gellhorn,  
Assistent am Institut.

(Eingegangen am 14. Juni 1922.)

In einer Reihe von Abhandlungen<sup>1)</sup> konnte der Einfluß besonders von Elektrolyten und Elektrolytgemischen, sowie die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Beweglichkeit von Spermatozoen gezeigt werden<sup>2)</sup>. Weiter wurde der Nachweis erbracht, daß die aus Testis und Ovarium dargestellten Optone insbesondere auf die Spermatozoen des Frosches eine spezifische Wirkung besitzen. Die Beweglichkeit der Spermatozoen ist nämlich in 0,1proz. Lösungen von Testis und Ovarialopton (als Lösungsmittel dient Brunnenwasser) lebhafter als in Brunnenwasser und zu einem Zeitpunkt, in dem die Spermatozoen der Kontrollflüssigkeit abgestorben sind, kann man in ihnen noch zahlreiche, gut bewegliche Spermatozoen erkennen. Was die Ergebnisse der Untersuchungen über die Wirkungen von Elektrolyten auf die Beweglichkeit und Lebensdauer der Spermatozoen anlangt, so gelten für die Kationen und die Anionen die Reihen



in denen die Ionen mit steigender Giftigkeit geordnet sind. Endlich konnte nachgewiesen werden, daß sowohl innerhalb der Kationen- wie der Anionenreihe die Giftwirkung eines Ions durch ein anderes Ion aufgehoben oder abgeschwächt werden kann.

Die Geltung der erwähnten Übergangsreihen für die Wirkung von Elektrolyten auf die Beweglichkeit von Spermatozoen ist natürlich

<sup>1)</sup> Ernst Gellhorn, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **185**, 262. 1920; **193**, 555. 1922; **193**, 576. 1922.

<sup>2)</sup> Über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Beweglichkeit der Spermatozoen werde ich an dieser Stelle noch ausführlich berichten.



als Erweiterung unserer Kenntnisse über Salzwirkung sowie als Material für die Begründung der *Hoeberschen* Theorie nicht ohne Interesse.

Im Lichte der speziellen Physiologie der Spermatozoen aber gesehen bedürfen diese Studien unbedingt einer Ergänzung. Es bleibt nunmehr die Aufgabe festzustellen, wie die Einwirkung bestimmter Agentien (Elektrolyte, Säuren, Laugen, Organextrakte) die Fähigkeit der Spermatozoen, normale Eier zu befruchten, beeinflusst. Denn die Beweglichkeit der Spermatozoen ist nur eine mechanische Vorbedingung für die Befruchtung. Es wäre denkbar, daß durch bestimmte chemische Stoffe bei erhaltener guter Beweglichkeit das Idioplasma der Spermatozoen derartig verändert wird, daß eine normale Befruchtung nicht mehr stattfindet. *O. Hertwig*<sup>1)</sup> scheint dies sowohl durch physikalische Eingriffe (Radiumstrahlen) als auch auf chemischem Wege (Strychnin, Chloralhydrat) erreicht zu haben. Falls aber eine derartige Beeinflussung des Idioplasmas durch die untersuchten Elektrolyte usw. nicht erfolgt, so ist aus den Befruchtungsversuchen eine Betätigung der an den Spermatozoen gemachten Beobachtungen zu erwarten. Denn es ist dann anzunehmen, daß in dem Medium, in dem sich die Spermatozoen am längsten in voller Beweglichkeit erhalten, auch die Befruchtung die größte Zahl positiver Versuche ergeben wird. Zudem erscheint der Befruchtungsversuch geeignet, in gewisser Hinsicht viel feinere Unterschiede in der Beeinflussung der Spermatozoen aufzudecken, als es die mikroskopische Beobachtung vermag. Denn die Zahl der normalen Befruchtungen wird mit der Zahl der beweglichen Spermatozoen in Verbindung stehen und gleichzeitig ein Beweis dafür sein, daß die Beweglichkeit eine gewisse, für die Befruchtung notwendige Intensität nicht unterschritten hat. Bei der mikroskopischen Beobachtung ist aber die Schätzung der Bewegungsintensität der Spermatozoen eine äußerst schwierige Sache. *Adolphi*<sup>2)</sup> versuchte an den Spermatozoen mehrerer Tierarten die Beweglichkeit zu messen und gibt auch für die mittlere Beweglichkeit bestimmte Zahlen an. Dabei bedient er sich der Prüfung der Geschwindigkeit, mit der die Spermatozoen gegen den Strom schwimmen. So findet er für die Spermatozoen von *Ran. temp.* eine Geschwindigkeit von  $33\mu$  pro sek, für Maus und Meerschweinchen sogar 50 bzw.  $60\mu$ . Die Nachprüfung dieser Untersuchung zeigt aber, daß die Geschwindigkeit der Spermatozoen in derselben Lösung (auch in Wasser!) eine sehr ungleiche ist, so daß die Mittelwerte nur eine sehr geringe Genauigkeit besitzen.

<sup>1)</sup> *Oscar Hertwig*, Veränderungen der idioplasmatischen Beschaffenheit der Samenfäden durch physikalische und durch chemische Eingriffe. Sitzungsberichte der Kgl. Preuß. Akad. d. Wiss. 20. VI. 1912. Keimesschädigung durch chemische Eingriffe. Ebenda, 12. VI. 1913.

<sup>2)</sup> *Adolphi*, Anat. Anz. 26. 1905; 28. 1906; 29. 1907.

Aus diesen Gesichtspunkten sind die folgenden Untersuchungen entstanden. Ich beschränkte mich hierbei allerdings nicht, die Spermatozoen vorzubehandeln und nach einer bestimmten Zeit normale Eier mit ihnen zu befruchten, sondern suchte vielmehr auch die Wirkung von Elektrolyten, Säuren, Laugen, sowie die Bedeutung des osmotischen Druckes für die Eier selbst festzustellen. Endlich ist eine dritte Reihe von Versuchen in Angriff genommen worden, in der normal befruchtete Eier eine verschieden lange Zeit in hyper-, iso- und hypotonische Lösungen bzw. in solche bestimmter Acidität und Alkalität versetzt wurde. In diesen Versuchen sollte nicht allein die physiologische Breite, in der normale befruchtete Eier sich noch ungestört entwickeln können, untersucht werden, sondern auch die Frage entschieden werden, ob die Widerstandsfähigkeit der Eier gegenüber bestimmten chemischen (Säuren, Laugen) oder physikalischen (Änderungen des osmotischen Druckes der Lösung) Eingriffen im Zusammenhange steht mit der Zeit, die seit der Befruchtung vergangen ist.

Die Untersuchungen sind bisher nur an *Rana temporaria* angestellt worden. Es wurden mehr als 20 000 Eier künstlich befruchtet. Das Hauptgewicht ist auf die Versuche mit Vorbehandlung der Spermatozoen gelegt worden. Die Ergebnisse sind vollständig eindeutig. Sie bringen eine Bestätigung meiner bereits in den Spermatozoenstudien erhaltenen Ergebnisse. Für die Annahme einer Veränderung des Idioplasmas der Spermatozoen durch die untersuchten chemischen Substanzen liegt kein Anhaltspunkt vor. Schwieriger erscheint die Deutung der Befruchtungsversuche, in denen die Eier vorbehandelt wurden. Hier zeigt sich, daß, wenn man die Eier während 30 Minuten oder länger in gewöhnliches Brunnenwasser legt und darauf mit normalem Sperma befruchtet, häufig nur in einem relativ geringen Prozentsatz Befruchtung erfolgt. Es liegt dies vermutlich daran, daß die Gallert-hülle des Froscheies in Wasser stark quillt und hierdurch das Eindringen des Spermatozoons verhindert. Deshalb wird es notwendig sein, die Geltung der Kationen- und Anionenreihen an Froscheiern mittels anderer Methoden zu untersuchen. Vielleicht gibt die Untersuchung des Sauerstoffverbrauches befruchteter Eier in verschiedenen Elektrolytlösungen in dieser Richtung brauchbare Resultate. Außerdem aber sollen noch weitere Versuche an Würmern und Meerestieren (Seeigel) angestellt werden.

### I. Befruchtungsversuche mit vorbehandeltem Sperma.

Zu den Versuchen werden nur frisch gefangene Copulae von *Rana temporaria* benutzt. Nach Trennung einer Copula wird das Männchen getötet und je zwei Tropfen einer konzentrierten Spermatozoenanschwemmung, wie sie sich mir bei zahlreichen Spermatozoenversuchen

bewährt hatte, zu den vorher in Uhrschildchen bereiteten Lösungen<sup>1)</sup> (2 ccm) hinzugefügt. Durch die mikroskopische Untersuchung, die zu Beginn des Versuches und außerdem vor der Befruchtung angestellt wird, erkennt man stets zahlreiche Spermatozoen in jedem Gesichtsfeld. Die Beweglichkeit zeigt die in früheren Mitteilungen<sup>2)</sup> beschriebenen Veränderungen, so daß auf diese verwiesen werden kann. Die Dauer der Vorbehandlung schwankt zwischen wenigen Minuten und 4 Stunden. Das Weibchen wird erst unmittelbar vor der Befruchtung getötet. Die Eier werden nach Eröffnung des Uterus mit einer Pinzette vorsichtig in einer Schicht auf Objektträgern ausgebreitet und die Spermatozoen sofort mit einer Pravazspritze zu ihnen hinzugefügt. Darauf werden die befruchteten Eier sogleich in Glasschalen von 14 cm Durchmesser, die 200 ccm Leitungswasser enthalten, überführt.

### 1. Über die Wirkung von Kationen.

In einer Reihe von Befruchtungsversuchen suchte ich die Wirkung bestimmter Kationen und Anionen auf die Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen zu prüfen.

Tabelle I.

	Dauer der Vorbehandlung Minuten			Zahl der entwickelten Eier			Gesamtzahl der Eier			Zahl der entwickelten Eier in Proz. d. Gesamtzahl		
	Vers. 26	Vers. 29	Vers. 29 a	Vers. 26	Vers. 29	Vers. 29 a	Vers. 26	Vers. 29	Vers. 29 a	Vers. 26	Vers. 29	Vers. 29 a
1. CsCl	35	30	100	13	25	35	33	30	36	39	83	97
2. NH <sub>4</sub> Cl				bis	bis	0	0	0	30	32	34	0
3. RbCl	45	35		0	0	0	30	30	30	0	0	0
4. KCl				0	0	0	30	30	31	0	0	0
5. NaCl				12	26	0	33	30	30	36	78	0
6. LiCl				20	22	17	33	30	30	60	73	56

In Tabelle I sind die Ergebnisse von drei Versuchen über die Wirkung von Cs, Li, Na, NH<sub>4</sub>, Rb und K (sämtlich als Chloride untersucht) enthalten. Aus diesen Versuchen sieht man, daß die Vorbehandlung der Spermatozoen mit NH<sub>4</sub>Cl, RbCl und KCl die Befruchtungsfähigkeit vollständig aufhebt. Die direkt vor Ausführung des Befruchtungsversuches angestellte mikroskopische Untersuchung der Spermatozoen zeigt aber, daß keineswegs alle Spermatozoen unbeweglich sind, die Intensität der Beweglichkeit ist aber bedeutend herabgesetzt. Bemerkenswert erscheint die Tatsache, daß auch die Übertragung der Eier mit den auf sie verteilten Spermatozoen in die Glasschalen mit 200 ccm

<sup>1)</sup> Sämtliche Lösungen sind, wenn nicht anders bemerkt,  $\frac{1}{40}$  normal.

<sup>2)</sup> Ernst Gellhorn, Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Spermatozoen. II. und III. Mitteilung. Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. **193**, 555—594. 1922.

Wasser, in denen also eine weitere Einwirkung der Salze auf die Spermatozoen nicht mehr stattfinden kann, da die Verdünnung zu groß ist, in keinem Falle zu einer genügenden Restitution der Beweglichkeit der Spermatozoen führt, um eine normale Befruchtung hervorzurufen. Die Eier wurden 3 Stunden nach der Befruchtung zum ersten Male mit der binocularen Lupe untersucht und diese Untersuchung mehrfach wiederholt. Es läßt sich aber niemals auch nur der Beginn einer Furchung feststellen, während in CsCl, NaCl und LiCl die Furchung in normaler Weise vor sich geht und auch zeitliche Änderungen in der Entwicklung gegenüber der Kontrolle (Spermatozoen in Brunnenwasser) nicht festgestellt werden können. Was nun die gegenseitige Stellung von Cs, Li und Na anlangt, so sieht man aus Versuch 29, daß eine relativ kurz dauernde Vorbehandlung (30—35 Minuten) keine Unterschiede hervortreten läßt, vielmehr tritt in allen Lösungen in einem sehr hohen Prozentsatz (73—83%) normale Befruchtung ein. Im Versuch 26 ist der Prozentsatz der befruchteten Eier etwas geringer auch übertrifft hier Li deutlich Cs und Na, die die Spermatozoen offenbar etwas stärker geschädigt haben. Während aber auch diesen Unterschieden kein allzu großes Gewicht beigemessen werden darf, da die Zahl der befruchteten Eier auch unter ganz gleichen Bedingungen häufig nicht unbedeutlichen Schwankungen unterliegt, ergeben sich bedeutende Differenzen in dem Versuch 29a, in dem erst nach einer 110 Minuten dauernden Vorbehandlung die Befruchtung vorgenommen wurde. Hier sieht man, daß die Spermatozoen am besten in CsCl erhalten bleiben; LiCl nimmt eine Mittelstellung ein mit einer Befruchtungsziffer von 56%, während in NaCl keine Befruchtung mehr eintritt. Das Ergebnis dieser Versuche besteht also hinsichtlich des Befruchtungseffektes in einer scharfen Teilung der Kationen in zwei Gruppen: Li, Cs, Na einerseits,  $\text{NH}_4$ , Rb, K andererseits. In der ersten Gruppe bleibt die Befruchtungsfähigkeit gut erhalten und zeigt, sofern die Dauer der Einwirkung etwa 45 Minuten nicht überschreitet, in etwa dem gleichen Prozentsatz normale Befruchtung wie die Spermatozoen in Brunnenwasser. Bei länger dauernder Einwirkung sind Cs und Li unschädlicher als Na. Dagegen sind  $\text{NH}_4$ , Rb und K für die Spermatozoen so giftig, daß selbst nach einer Vorbehandlung von nur 30 Minuten keine normale Befruchtung beobachtet wird. Die in einer früheren Mitteilung hinsichtlich der Giftwirkung der Kationen auf die Beweglichkeit der Spermatozoen von *Rana temporaria* aufgestellte Reihe

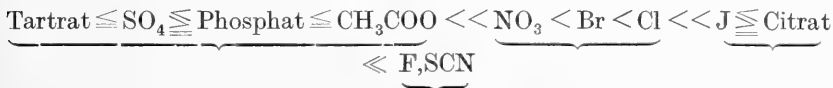


wird also durch die Befruchtungsversuche vollständig bestätigt. Deshalb erscheint der Schluß gerechtfertigt, daß der Ausfall der Befruchtungsversuche lediglich auf der Änderung der Beweglichkeit der Spermatozoen

beruht. Diese aber ist, wie aus dem Auftreten von Übergangsreihen gefolgert wird, auf eine Beeinflussung der Zellkolloide im Sinne der *Hoeberschen Theorie*<sup>1)</sup> zurückzuführen.

## 2. Über die Wirkung von Anionen.

Zur Untersuchung der Wirkung der Anionen werden ausschließlich Natriumsalze benutzt. Natriumfluorid sowie Natriumrhodamid wird fortgelassen, da frühere Studien<sup>2)</sup> die fast augenblickliche Abtötung der Spermatozoen in diesen Lösungen ergeben hatten. Die bereits oben erwähnten ziemlich großen Schwankungen in der Prozentzahl der Befruchtungen werden auch hier die Aufmerksamkeit im wesentlichen auf die Gültigkeit der Gruppenanordnung in der Anionenreihe richten, die zur Aufstellung der Reihe:



geführt hatte. Die Tabelle II gibt im Auszug die Ergebnisse wieder. Für die Besprechung ist es zweckmäßig, die Versuche mit verhältnismäßig kurzer Vorbehandlung der Spermatozoen (20–40 Minuten in den Versuchen Nr. 2, 5, 6, 26, 29, 32) von solchen mit langer Einwirkungszeit (Nr. 5a, 26a, 29a) gesondert zu betrachten.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß bei kurzdauernder Vorbehandlung (besonders in Versuch Nr. 2 und 6) nicht einmal deutliche Unterschiede zwischen der Prozentzahl des NaCl-Versuches und der Tartratgruppe hervortreten; ja gelegentlich wird sogar beobachtet, daß die Befruchtungszahl der NaCl-Spermatozoen größer als die der Tartrat- oder Sulfat-Spermatozoen ist. Es dürfte dies daran liegen, daß innerhalb der ersten halben Stunde die Beweglichkeit der Spermatozoen auch in Chlorid noch sehr gut ist. Auch in den Spermatozoenversuchen, über die ich früher berichtete, wurde hervorgehoben, daß die Unterschiede erst allmählich sich zeigen. Berücksichtigt man aber eine größere Reihe von Versuchen, in denen die Vorbehandlung der Spermatozoen bis zu 45 Minuten gedauert hat, so treten trotz gelegentlicher Schwankungen bezüglich des gegenseitigen Verhältnisses der Befruchtungszahl von Anionen der Chloridgruppe zu denen der Tartratgruppe doch sehr deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Anionen auf. Wenn ich die durchschnittliche prozentuale Befruchtungszahl aller Versuche, in denen die Vorbehandlung der Spermatozoen 20–45 Minuten gewährt

<sup>1)</sup> *Rudolf Hoeber*, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 4. Aufl. Kapitel X. Leipzig 1914.

<sup>2)</sup> *Ernst Gellhorn*, II. Mitteilung l. c.



bestätigt. Die Reihenfolge innerhalb der Chloridgruppe stimmt zwar in den Befruchtungsversuchen nicht mit den Spermatozoenversuchen überein; doch ist ja häufig betont worden, daß innerhalb der verschiedenen Gruppen Umstellungen der einzelnen Glieder nicht selten beobachtet werden.

Ist aber die oben aufgestellte Behauptung richtig, daß innerhalb der kurzdauernden Versuche Unterschiede nur deshalb oft in geringem Maße auftreten, weil die Beweglichkeit der Spermatozoen auch in Chlorid noch annähernd optimal geblieben ist, so muß die nach langdauernder Vorbehandlung der Spermatozoen durchgeführte Befruchtung auch in der Befruchtungszahl stärkere Differenzen aufzeigen. Dies ist nun in der Tat der Fall. So ist z. B. in den Versuchen 26a und 29a der Tabelle II nach 100 bzw. 110 Minuten Vorbehandlung die Befruchtungsfähigkeit der Kochsalzspermatozoen erloschen, während die in Natriumtartrat verbliebenen Spermatozoen in 87% normale Eier befruchteten. Daß Bromid und Nitrat gewöhnlich etwas weniger schädlich ist als Chlorid, geht in Übereinstimmung mit den früheren Spermatozoenversuchen aus Versuch Nr. 26a und 29a deutlich hervor. Auch für die Überlegenheit von Sulfat gegenüber Chlorid gibt Versuch Nr. 5a ein Beispiel. In einem anderen Versuche, in dem die Vorbehandlung der Spermatozoen 80 Minuten dauerte, erzielten die NaCl-Spermatozoen in 70%, die Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Spermatozoen dagegen in 100% normale Furchung der Eier.

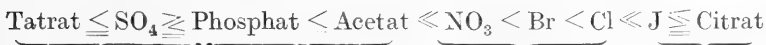
Endlich konnte noch der Nachweis erbracht werden, daß die geringe Schädlichkeit des Phosphats im Verhältnis zum Chlorid nicht etwa auf Rechnung der alkalischen Reaktion der Lösung des sekundären Natriumphosphats zu setzen ist. So beträgt z. B. in einem Versuche die Zahl der befruchteten Eier, die sich zu Kaulquappen entwickeln, in

1. NaCl . . . . .	87%	0%
2. Phosphatgemisch $p_{\text{H}} = 7$ . . . . .	85%	80%
Dauer der Vorbehandlung in Minuten	30	100

Während also bei kurzer Vorbehandlung sich kein Unterschied zeigt, tritt in dem Versuche mit lang dauernder chemischer Beeinflussung der Spermatozoen die geringe Schädlichkeit der neutralen Phosphatlösung sehr deutlich zutage.

Die Ergebnisse der bisher geschilderten Versuche lassen sich folgendermaßen zusammenfassen.

*Die Geltung der Übergangsreihen:*



bezieht sich nicht allein auf die Beeinflussung der Beweglichkeit der Spermatozoen, sondern kommt auch in der Prozentzahl, in der vorbehandelte Spermatozoen normale Eier zu befruchten vermögen, zum Ausdruck. Es wird hieraus geschlossen, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen der Erfolg der Befruchtung lediglich von der Intensität der Beweglichkeit der Spermatozoen abhängt. Eine Schädigung des Idioplasmas, wie sie Hertwig auch nach chemischen Eingriffen beobachtete, konnte nicht nachgewiesen werden. Vielmehr verläuft die Entwicklung bei Vorbehandlung der Spermatozoen mit den genannten Salzen stets normal. Die ausgeschlüpften Kaulquappen wurden zum größten Teil in mehreren hundert Exemplaren bis zum Durchbruch der Hinterbeine aufgezogen. Dabei war für möglichst große Gleichheit der Lebensbedingungen gesorgt. Es konnte nirgends ein sicherer Anhaltspunkt für eine Störung in der Entwicklung oder eine erhöhte Mortalität bei den Kaulquappen, die aus der Befruchtung vorbehandelter Spermatozoen mit normalen Eiern hervorgegangen waren, gefunden werden. Ob gewisse Wachstumsunterschiede, die zuweilen beobachtet wurden, als ein zufälliges Vorkommnis angesehen werden dürfen oder nicht, können erst weitere Untersuchungen lehren.

### 3. Über die Wirkung von Elektrolytgemischen

Wenn nach den bisherigen Versuchen die Gültigkeit der Kationen- und Anionenreihe auch für den Befruchtungserfolg vorbehandelter Spermatozoen mit normalen Eiern als erwiesen gelten dürfte, so scheint doch eine Bestätigung und Erweiterung dieses Ergebnisses wünschenswert. Ich legte mir nämlich die Frage vor, ob die Aufhebung bzw. Verminderung der Giftigkeit eines Kations oder Anions durch ein anderes derselben Reihe, die hinsichtlich der Beweglichkeit der Spermatozoen in einer früheren Mitteilung<sup>1)</sup> gezeigt werden konnte, auch bezüglich der Befruchtungszahl dargetan werden kann. Die Versuchsanordnung ist damit gegeben. Es wird einmal die Befruchtung nach Vorbehandlung der Spermatozoen mit einem relativ schädlichen Ion ausgeführt, zweitens die Befruchtungszahl bei Behandlung der Spermatozoen mit dem „entgiftend“ wirkenden Ion und drittens in einem passenden Gemisch beider festgestellt. Es ist auf diese Weise rein zahlenmäßig die Entscheidung möglich, ob etwa ein echter antagonistischer Effekt oder nur eine Verminderung der Giftigkeit des einen Ions durch ein zweites eintritt. In den vorliegenden Versuchen beschränkte ich mich lediglich auf die Verwendung einwertiger Kationen. Über die Wirkung zwei- und mehrwertiger Ionen gedenke ich später ausführlich zu berichten, da ja der Nachweis der Entgiftung von NaCl

<sup>1)</sup> Ernst Gellhorn, III. Mitteilung I. c.



durch mehrwertige Kationen in den bekannten Versuchen von *J. Loeb*<sup>1)</sup> sich auf die *Entwicklung* von Funduluseiern bezieht und darum mit unseren Versuchen nicht vergleichbar ist. Die Tabelle III enthält in verkürzter Form die wichtigsten Ergebnisse über die Entgiftung von Cl, J und Br durch andere Ionen (Tartrat, Sulfat, Phosphat, Acetat). Zu diesen Versuchen ist zu bemerken, daß die Spermatozoen stets in  $\frac{1}{40}$  normaler Lösung sich befanden. Bei Verwendung von Elektrolytgemischen ist das relative molare Verhältnis der beiden Salze wie 1 : 1.

Was zunächst auch hier die kurz dauernden Versuche Nr. 5 und 29 anlangt, so ist eine Entgiftung von NaCl durch  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , Na-acetat,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Na-tartrat nicht festzustellen, was ja nach den oben gemachten Ausführungen insofern zu erwarten ist, als die Befruchtungszahl in NaCl an sich noch so hoch ist, daß eine wesentliche Verbesserung gar nicht eintreten kann. Das Gleiche gilt für die Spermatozoen, die in NaBr vorbehandelt sind. Ganz anders verhält es sich aber mit Natriumjodid. Versuch 29 beweist, daß die Befruchtungszahl in den Elektrolytgemischen erheblich höher als in NaJ selbst ist.

Vergleicht man aber die Befruchtungszahlen der mit NaJ bzw. Natriumphosphat (Mischung aus prim. und sek. Natriumphosphat nach *Sörensen*, so daß  $p_{\text{H}} = 7$  ist) und Na-tartrat vorbehandelten Spermatozoen mit den Befruchtungszahlen, die in den Versuchen erhalten wurden, in denen auf die Spermatozoen NaJ einerseits, Phosphatgemisch bzw. Na-tartrat andererseits zu gleichen Teilen einwirkten, so erkennt man, daß zwar die Befruchtungszahl im Versuch mit dem Elektrolytgemisch stets die des NaJ-Versuches bedeutend übertrifft. Die fast optimale Befruchtungszahl im Phosphat- bzw. Tartratversuch wird aber natürlich nicht erreicht.

Zum Nachweis der günstigen Wirkung der Elektrolytkombinationen ist aber ein Versuch mit lang dauernder Vorbehandlung der Spermatozoen (vgl. Versuch Nr. 5a, 6a und 29a in Tabelle III) besonders geeignet. Hier findet man nun auch außerordentlich große Unterschiede. So zeigt z. B. Versuch 5a, daß nach Vorbehandlung der Spermatozoen während 75 Minuten die NaCl-Spermatozoen nur in 4%, die im Gemisch NaCl + Na-acetat befindlichen Samenfäden aber in 61% normale Entwicklung der Eier erzielen. Besonders frappant ist das Ergebnis des Versuches Nr. 29a. Die Vorbehandlung von 100 Minuten Dauer bewirkte hier, daß die NaCl- und NaJ-Spermatozoen überhaupt keine Eier befruchten konnten. In entsprechenden Gemischen mit Phosphat bringen die NaCl-Spermatozoen 83%, die NaJ-Spermatozoen 66% der Eier zur Entwicklung. Die entsprechenden Zahlen in der Kombination mit Na-tartrat sind 86 bzw. 53%; sie bilden zugleich eine Bestätigung für

<sup>1)</sup> *Jaques Loeb*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **88**, 68. 1901.

Tabelle III.

	Zahl der entwickelten Eier					Gesamtzahl der Eier					Prozentzahl der entwickelten Eier				
	V	Va	VIa	29	29a	V	Va	VIa	29	29a	V	Va	VIa	29	29a
1. NaCl	44	3		26	0	69	71		30	30	63	4		86	0
2. NaBr				3	32	9		60	33	30			5	97	30
3. NaJ				16	11	0		50	30	30			32	36	0
4. Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	60	62				68	70				88	88			
5. Na-Tartrat				28	26				30	30				93	86
6. $\left. \begin{array}{l} \text{Na}_2\text{HPO}_4 \\ \text{NaH}_2\text{PO}_4 \end{array} \right\} p_{\text{H}} = 7$					25	28			30	35				83	80
7. Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	21	7				72	68				30	10			
8. Na-Acetat	67	63				72	71				93	88			
9. NaCl + Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	55	30				70	72				78	41			
10. $\left. \begin{array}{l} \text{NaCl} + \text{Na}_2\text{HPO}_4 \\ \text{NaH}_2\text{PO}_4 \end{array} \right\} p_{\text{H}} = 7$				28	25				30	30				93	83
11. NaCl + Na-Tartrat	36	16		29	25	70	70		33	29	51	22		87	86
12. NaBr + Na-Tartrat				25	20				32	30				78	66
13. NaJ + Na-Tartrat				29	16				36	30				80	53
14. NaCl + Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	27	15				70	68				38	22			
15. NaCl + Na-Acetat	53	43				74	70				71	61			
16. NaBr + Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>				30				50					60		
17. NaJ + Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>				27				50					54		
18. $\left. \begin{array}{l} \text{NaBr} + \text{Na}_2\text{HPO}_4 \\ \text{NaH}_2\text{PO}_4 \end{array} \right\} p_{\text{H}} = 7$					25	26			30	30				83	86
19. $\left. \begin{array}{l} \text{NaJ} + \text{Na}_2\text{HPO}_4 \\ \text{NaH}_2\text{PO}_4 \end{array} \right\} p_{\text{H}} = 7$					18	20			30	30				60	60
Nummer des Versuches	V	Va	VIa	29	29a	V	Va	VIa	29	29a	V	Va	VIa	29	29a
Dauer der Vorbehandlung in Minuten	30	75	110 bis 130	30 bis 40	100										

die früher<sup>1)</sup> hervorgehobene Beobachtung, daß die NaJ-Wirkung sich schwerer als die von NaCl und NaBr abschwächen läßt und daß die Phosphationen hierzu die größte Eignung besitzen. Hervorgehoben sei aber — und auch in diesem Punkte besteht mit unseren früheren Untersuchungen Übereinstimmung —, daß im allgemeinen die Befruchtungszahl in dem Elektrolytgemisch nicht größer, sondern eher etwas geringer ist, als bei Einwirkung von Phosphat, Tartrat usw. allein. Eine Ausnahme hiervon beobachteten wir aber in den Befruchtungsversuchen mehrfach. Es zeigt sich nämlich nicht selten, daß die Kombination NaCl + Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eine höhere Befruchtungszahl als jede der Komponenten aufweist (vgl. z. B. Versuch Nr. 5a). Ich möchte aber doch nicht für diesen Fall einen echten Ionenantagonismus annehmen, sondern vielmehr mit Rücksicht auf die Tatsache, daß auch bei Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in Versuchen mit lang dauernder Vorbehandlung diese Wirkung durch-

<sup>1)</sup> l. c. III. Mitteilung, S. 583.

aus nicht regelmäßig beobachtet wird, glauben, daß derartige Versuche in zufälligen Schwankungen in der Befruchtungszahl ihre Ursache haben.

Auch in den Befruchtungsversuchen nach Vorbehandlung der Spermatozoen mit Elektrolytgemischen gelingt wiederum der Nachweis, daß die Fähigkeit des Phosphats, Cl zu entgiften, nicht an die Alkalität von sekundärem Natriumphosphat gebunden ist. Auch in genau neutraler Lösung (von der  $p_H = 7$ ) wird die gleiche Wirkung festgestellt, allerdings in etwas abgeschwächter Form, was man wohl (vgl. Versuch 29a) daran erkennt, daß nun zwischen Tartrat und Phosphat kein Unterschied zugunsten des Phosphats mehr besteht.

Die Ergebnisse einiger Versuche, die zum Nachweise des Ionenantagonismus innerhalb der *Kationenreihe* ausgeführt wurden, sind in Tabelle IV zusammengestellt.

Tabelle IV.

	Zahl der entwickelten Eier					Gesamtzahl der Eier					Prozentzahl der entwickelten Eier				
	26	95	72	47	12	88	114	114	50	33	29	83	63	95	36
1. NaCl															
2. KCl. Einwirk. 5 Min.			2					89					2		
Einwirkung 15 Minuten			2					120					1		
Einwirkung 30 Minuten	0	0	0	0	0	100	108	110	50	30	0	0	0	0	0
3. NaCl + KCl (1 : 1)			10	35	22			98	50	31			10	70	70
4. NaCl + KCl 1 : 1/5	102	61	50	15		162	141	119	50		63	43	42	30	
5. KCl + Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			22					115					19		
6. KCl + Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>			32					115					27		
7. KCl + Na-acetat			13					117					11		
8. KCl + Na-tartrat			4					97					4		
Dauer der Einwirkung in Minuten	40	30	30	bis 40	bis 45										
Nr. des Versuches	1	2	3	16	26	1	2	3	16	26	1	2	3	16	26

Die Entgiftung von KCl durch Kochsalz oder andere Natriumsalze zeigt sich in sämtlichen Versuchen mit großer Eindringlichkeit. Ist es mir doch in sehr zahlreichen Versuchen niemals gelungen, auch nur ein Ei mit Spermatozoen zu befruchten, die 30 Minuten vorher in einer KCl-Lösung sich befunden hatten. Dagegen gelingt es bei gleicher Dauer der Vorbehandlung sogar bis zu 70% Eier zu befruchten, wenn auf die Spermatozoen ein Gemisch von KCl + NaCl, in dem die molaren Konzentrationen der einzelnen Salze sich wie 1 : 1 verhalten, eingewirkt hat. Nur wenn man die Einwirkungszeit von KCl auf die Spermatozoen wesentlich verkürzt (5—15 Minuten), gelingt es, wenn auch nur in einem sehr geringen Prozentsatz, gelegentlich Befruchtung zu

erzielen. Das molare Verhältnis von NaCl : KCl verhält sich in vielen Versuchen wie 1 : 1 oder 1 :  $\frac{1}{5}$  oder 1 :  $\frac{1}{10}$ . Unter allen Bedingungen konnte eine mehr oder weniger bedeutende Befruchtungsziffer erzielt werden: ein *optimales* Gemisch läßt sich aber nicht angeben. Wie ja überhaupt die Befruchtungsversuche ergeben haben, daß feinere Unterschiede in der Befruchtungsziffer nur mit großer Vorsicht verwertet werden dürfen, da die zufällige Variation keine ganz geringe ist. Versuch Nr. 3 (Tabelle IV) gibt dann noch einen Beleg für die vorauszusehende Tatsache, daß die Entgiftung von KCl auch durch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , Na-tartrat,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  und Na-acetat erfolgen kann. Daß nur in einem Teil der Versuche (z. B. Versuch Nr. 1 und Nr. 26) die Befruchtungszahl in dem Gemisch von NaCl + KCl bedeutend größer als in NaCl selbst ist, also ein echter antagonistischer Effekt vorliegt, kann einmal an der relativ großen Konzentration des KCl liegen<sup>1)</sup>, weiterhin aber auch daran, daß es natürlich zum guten Teil Sache des Zufalls ist, den Versuch gerade in dem Augenblick anzustellen, in dem die NaCl-Spermatozoen bereits eine so wesentliche Schwächung in ihrer Beweglichkeit erfahren haben, daß sie nur in einem geringen Prozentsatz zu befruchten imstande sind.

Die Versuche mit Elektrolytgemischen stehen also ebenfalls in völliger Übereinstimmung mit unseren früheren Erfahrungen über ihre Wirksamkeit auf die Beweglichkeit der Spermatozoen. Wir schließen hieraus, daß ebenso wie für die Differenzen in den Befruchtungsziffern, die nach Vorbehandlung der Spermatozoen mit den verschiedenen Kationen der Alkalireihe sowie mit den Anionen bei Verwendung ihrer Natriumsalze erhalten werden, auch für die Unterschiede nach Einwirkung von Elektrolytgemischen lediglich die Beeinflussung der Beweglichkeit der Spermatozoen maßgebend ist. Mit anderen Worten: *Werden die Spermatozoen von Rana temporaria in verschiedenen Elektrolyten oder Elektrolytgemischen vorbehandelt, so gelten für die Befruchtungsziffern die bekannten Übergangsreihen, deren Nachweis für die Hoebersche Theorie der Salzwirkung spricht, so daß auch der Befruchtungserfolg unter den gegebenen Bedingungen von einer typischen Beeinflussung der Kolloide des Spermatozoons abhängt.* In sämtlichen Versuchen entwickelten sich aus den befruchteten Eiern normale Kaulquappen. Ob feinere Unterschiede in der Entwicklung bei Eiern auftreten, die mit vorbehandelten Spermatozoen befruchtet werden, können erst weitere Untersuchungen lehren. Unsere bisherigen Erfahrungen machen aber derartige Wirkungen höchst unwahrscheinlich. Wir werden deshalb zunächst auch der Möglichkeit, mittels Elektrolyten das Idioplasma der Spermatozoen beeinflussen zu können, sehr skeptisch gegenüberstehen.

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu meine früheren Versuche. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **193**, 577/78. 1922.

Vielleicht liegen aber Bedingungen, unter denen es auf chemischem Wege gelingt, das Idioplasma der Spermatozoen zu verändern, viel komplizierter, als es nach den Versuchen von *O. Hertwig* scheinen möchte. Ich habe nämlich einen Versuch durchgeführt, in dem die Spermatozoen während 30 Minuten mit  $\frac{1}{4}\%$  Strychnin. nitric. vorbehandelt wurden. Im Kontrollversuch entwickelten sich sämtliche Eier normal, im Strychninversuch blieben von 40 Eiern nur 5 unbefruchtet. Die übrigen zeigten gänzlich normale Entwicklung und wurden mehrere Wochen beobachtet, ohne daß äußerlich irgendwelche Schädigungen auftraten. Eine kurz dauernde Vorbehandlung der Eier (10 Minuten) mit  $\frac{1}{4}\%$  Strychnin. nitric. hatte ebenfalls keine Schädigung zur Folge, wenn darauf Besamung mit normalem Sperma vorgenommen wurde. Nimmt man aber hierzu Spermatozoen, die selbst 30 Minuten hindurch in Strychninlösung sich befanden, so tritt überhaupt keine Furchung ein. Jedenfalls konnten in keinem Falle Befunde erhoben werden, die zugunsten der *Hertwigschen* Theorie, daß auf chemischem Wege das Idioplasma beeinflussbar sei, erhoben werden.

## II. Befruchtungsversuche mit vorbehandelten Eiern.

Es wurde bereits oben darauf hingewiesen, daß eine länger dauernde Vorbehandlung der Eier wegen zu starker Quellung der Gallerthülle nicht zugänglich ist. Nimmt doch die Befruchtungszahl rapide ab, selbst wenn normale Eier mehr als 30 Minuten in Brunnenwasser gelegt werden, bevor eine Besamung mit nicht vorbehandeltem Sperma eintritt. Immerhin gelingt es in einem Teil der Versuche nach Vorbehandlung der Eier während 15–30 Minuten eine hohe Befruchtungsziffer zu erhalten. In dieser Hinsicht ist der Versuch Nr. 33 in Tabelle V von besonderem Interesse.

Tabelle V.

	Zahl der entwickelten Eier	Gesamtzahl der Eier	Prozentzahl der entwickelten Eier	
1. NaCl	40	40	100	} Einwirkungsdauer 20 Minuten.
2. CsCl	36	40	90	
3. LiCl	36	36	100	
4. $\text{NH}_4\text{Cl}$	34	37	92	
5. RbCl	30	36	83	
6. KCl	31	34	91	

Aus ihm geht hervor, daß eine unterschiedliche Wirkung innerhalb der Kationenreihe nicht besteht, da in sämtlichen Lösungen der Alkalichloride fast alle Eier befruchtet werden. In einer ganzen Anzahl weiterer Versuche war die Befruchtungszahl wesentlich geringer. Ge-

legentlich (besonders nach 30 Minuten Vorbehandlung) wird sogar nur vereinzelt Befruchtung erzielt. Aber auch in diesen Versuchen tritt kein sicherer Unterschied zwischen den verschiedenen Kationen auf. Weiterhin konnte in einem Versuch nach Einwirkung von KCl während 30 Minuten auf die Eier noch in 93% normale Befruchtung erreicht werden, während die Spermatozoenversuche ja schon die große Giftigkeit von KCl bei einer nur 5 Minuten währenden Vorbehandlung erwiesen hatten. Diese Versuche dürften deshalb die Annahme rechtfertigen, daß unter den gegebenen Bedingungen einer Spezifität innerhalb der Kationenreihe nicht besteht. Ist die Befruchtungsziffer sehr gering, so liegt dies an der Quellung der Gallerte, die den Eintritt des Spermas erschwert oder verhindert.

Unter diesen Umständen möchte ich auch auf die tabellarische Wiedergabe der Anionenversuche verzichten. Die Befruchtungsziffer war in diesen Versuchen sehr gering, ohne aber regelmäßige Unterschiede aufzuweisen, die in ursächlichem Zusammenhange mit der Natur der verwendeten Elektrolyten stehen dürften.

Diese Versuche bedürfen aber in mehrfacher Hinsicht der Ergänzung. Einmal sollen andere Eier zu diesen Versuchen herangezogen werden, in denen dem Eindringen der Elektrolyten nicht so große physikalische Widerstände entgegenstehen. Vielleicht gelingt es aber ebenso wie an den Spermatozoen, auch an Froscheiern typische Elektrolytwirkungen zu erzielen, wenn die Quellung durch Hinzufügung mehrwertiger, entquellend wirkender Kationen (z. B. Ca) auf ein Minimum reduziert und dadurch die Dauer der Vorbehandlung der Eier verlängert werden kann.

Erl. stud. med. *Sinaida von Exten* danke ich auch an dieser Stelle herzlich für ihre verständnisvolle Mitarbeit.

#### *Zusammenfassung.*

1. Es wird über Befruchtungsversuche an *Rana temporaria* berichtet, in denen die Spermatozoen mit den Alkalichloriden oder verschiedenen Natriumsalzen eine bestimmte Zeit vorbehandelt und darauf zur Besamung normaler Eier verwendet wurden. Diese Versuche ergaben, daß die Befruchtungsziffer, die den Prozentsatz der normal entwickelten Eier angibt, bei den verschiedenen Anionen und Kationen verschieden ist und in völliger Übereinstimmung mit den Kationen- und Anionenreihen steht, deren Gültigkeit für die Beweglichkeit und Lebensdauer der Spermatozoen von *Rana temporaria* durch eigene frühere Untersuchungen erwiesen ist. Ebenso läßt sich die Entgiftung innerhalb der Kationen (z. B. von KCl durch NaCl) und der Anionenreihe (z. B. von Cl, J oder Br durch Phosphat, Acetat, Tartrat und Sulfat) auch durch den Befruchtungsversuch nachweisen.

2. In sämtlichen Versuchen verläuft die Entwicklung der Eier völlig normal, so daß keine Anhaltspunkte für eine chemische Beeinflussung des Idioplasmas vorhanden sind.

3. Bei Vorbehandlung der Eier mit verschiedenen Elektrolyten konnte eine spezifische Ionenwirkung nicht festgestellt werden. Es wird wahrscheinlich gemacht, daß dies durch die starke Quellung der Gallerte der Froscheier bewirkt wird und deshalb der Nachweis der Ionenwirkung auf die Befruchtungsfähigkeit der Eier weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben muß.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Halle a. S.)

## Befruchtungsstudien.

### II. Mitteilung.

Von

Privatdozent Dr. phil. et med. **Ernst Gellhorn**,

Assistent am Institut.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. Juni 1922.)

In den Versuchen der ersten Mitteilung<sup>1)</sup> konnte gezeigt werden, daß zwar die Befruchtungszahl nach Vorbehandlung der Spermatozoen mit Elektrolyten in typischer Weise beeinflußt wird, aber die Entwicklung der Eier in völlig normaler Weise abläuft. Auch wenn die Eier in Elektrolytlösungen vorbehandelt werden, ist keine Einwirkung auf das Idioplasma festzustellen. Sind nämlich die Eier noch durch normales Sperma zur Entwicklung zu bringen, so verläuft diese ohne irgendwelche Störungen. Durch dieses Verhalten ist die Möglichkeit gegeben, die Resistenz von Spermatozoen und Eiern gegenüber Variationen der Wasserstoffionenkonzentration sowie des osmotischen Druckes zu untersuchen, da wir hierzu nur Elektrolyte (evtl. auch das in den zu verwendenden Mengen ganz unschädliche Glykokoll) benötigen und darum keine Störung der Versuchsergebnisse durch Veränderungen der idiosplasmatischen Substanz zu befürchten haben. Die Untersuchungen konnten bisher nur an *Rana temporaria* ausgeführt werden. Ich hoffe aber auch diese Versuche bald auf andere Tierklassen übertragen zu können, nicht allein um weiteres Material für eine vergleichende Physiologie der Befruchtung zu gewinnen, sondern auch um zu prüfen, inwieweit die Resistenz der Generationszellen verschiedener Tierarten gegenüber bestimmten äußeren Einflüssen in Zusammenhang steht mit dem Milieu, in dem normalerweise die Befruchtung erfolgt. Hatten doch bereits früher mitgeteilte Versuche<sup>2)</sup> über die Wirkung bestimmter Kationen auf die Lebensdauer der Spermatozoen Ergebnisse gezeitigt, die aus einer Anpassung der Spermatozoen an ein bestimmtes Milieu erklärbar zu sein schienen.

<sup>1)</sup> *Ernst Gellhorn*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **196**, 358. 1922.

<sup>2)</sup> *Ernst Gellhorn*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **185**, 262. 1920.



In Ergänzung der Versuche über die Resistenz der Spermatozoen gegenüber Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration und des osmotischen Druckes habe ich noch eine Serie von Versuchen teils an künstlich befruchteten Eiern, teils an normalem Laich, der natürlich befruchtet worden war, durchgeführt, um den Einfluß dieser Faktoren auf die Entwicklung festzustellen. Hierüber liegen bereits mehrere zum größten Teil ältere Untersuchungen vor, auf die ich weiter unten noch zu sprechen komme. Übrigens scheint auch hier noch ein weites Feld für die Forschung vorzuliegen. Denn wenn auch eine ziemlich große Anzahl von Untersuchungen (besonders von *Herbst*<sup>1)</sup> sich mit dem Einfluß bestimmter Elektrolyte auf die Entwicklung beschäftigt, so ist doch den gleichzeitigen Veränderungen des osmotischen Druckes zu wenig Beachtung geschenkt worden. So heben *Korschelt* und *Heider*<sup>2)</sup> anläßlich der Besprechung der Versuche von *O. Hertwig*, *Herbst*, *Wilson* und *Driesch* hervor, „daß es sich bei diesen Effekten z. T. nicht um chemische, sondern um osmotische Einflüsse handelt. Freilich sind wir derzeit noch kaum in der Lage, das Wirkungsgebiet beider gegeneinander abzugrenzen“. Und aus diesem Grunde ist z. B. die Frage, ob die einzelnen Vertreter der Kationen- und Anionenreihe in spezifischer Weise die Entwicklung beeinflussen, noch nicht als entschieden anzusehen. Zwar hebt *Herbst* hervor, daß bei der Einwirkung von verschiedenen Lithiumsalzen (Chlorid, Bromid, Jodid, Nitrat und Sulfat) auf Seeigeleier die gleichen Störungen auftreten, so daß also von einer typischen Wirkung innerhalb der Anionenreihe nicht gesprochen werden kann, aber gerade diesen Versuchen gegenüber ist der Einwand berechtigt, daß auch keine Lithiumwirkungen vorhanden sind, sondern nur die Hypertonie der Lösungen die Abweichungen von der normalen Entwicklung hervorgerufen hat. Überhaupt scheinen mir Meerestiere zum Studium der Elektrolytwirkungen auf die Entwicklung deshalb nicht besonders geeignet, weil der isolierten Einwirkung nur eines Salzes, auch wenn dieses mit Meerwasser isotonisch ist, häufig große Hindernisse im Wege stehen dürften. Wissen wir doch z. B. aus den klassischen Untersuchungen von *J. Loeb*<sup>3)</sup>, daß die Entwicklung normal befruchteter Seeigeleier in NaCl-Lösung nicht gelingt, sondern daß es hierzu der Anwesenheit entgiftender zweiwertiger Salze, wie Ca, Mg oder Ba usw. bedarf. Hingegen bietet das Studium der Wirkung nur eines Salzes auf die Entwicklung von *Rana temporaria* keine Schwierig-

<sup>1)</sup> *Herbst*, Zeitschr. f. wissenschaftl. Zoologie **55**. 1893; Mitteilungen der zoolog. Station Neapel **11**. 1893. Arch. f. Entwicklungsmechanik **2**. 1896; **5**. 1897.

<sup>2)</sup> *Korschelt* und *Heider*, Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der wirbellosen Tiere. Allgemeiner Teil. 1. u. 2. Aufl. S. 73. Jena 1902.

<sup>3)</sup> *J. Loeb*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **88**, 68. 1901; Americ. Journ. of Physiol. **6**, 411. 1902; Biochem. Zeitschr. **5**, 351. 1907.

keiten. Hatte doch schon *Rauber*<sup>1)</sup> zeigen können, daß die Eier von *Rana temporaria* sich auch in destilliertem Wasser zu entwickeln vermögen und *O. Hertwig*<sup>2)</sup> hat ja auch für ein Salz (NaCl) die Untersuchung mit Erfolg durchgeführt. Die Wirkung der übrigen Alkalichloride sowie die Bedeutung der Anionen möchte ich aber unter Berücksichtigung des für die Entwicklung der Eier optimalen osmotischen Druckes einer besonderen Abhandlung vorbehalten und mich in dieser Mitteilung lediglich auf Versuche über die Wirkungen des osmotischen Druckes und verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen beschränken.

## I. Über die Wirkung des osmotischen Druckes für Befruchtung und Entwicklung.

Zunächst werden eine Reihe von Versuchen angestellt, in denen lediglich die Spermatozoen Elektrolytlösungen von verschiedenem osmotischen Druck eine bestimmte Zeit hindurch ausgesetzt werden. Sodann wird mit diesen Spermatozoen die Besamung normaler Eier vorgenommen. Schon aus den Beobachtungen, die in meiner ersten<sup>3)</sup> Mitteilung über die Beweglichkeit der Spermatozoen niedergelegt sind, geht für Kochsalz hervor, daß weder die zu Befruchtungsversuchen häufig verwandte 0,3proz. Lösung und noch weniger 0,6% NaCl als indifferent für die Spermatozoen gelten kann. Deshalb wurde auch von mir sowohl in den Spermatozoenstudien als auch in der ersten Mitteilung über Befruchtung durchgehend nur  $\frac{n}{40}$ -Lösungen verwendet. Da aber aus der Herabsetzung der Beweglichkeit in Lösungen von höherem osmotischen Druck nicht ohne weiteres geschlossen werden kann, ob die Spermatozoen noch befruchtungsfähig sind oder nicht, da ja auch bereits unbeweglich gewordene Spermatozoen unter bestimmten Bedingungen wieder gute Beweglichkeit erlangen können, so war es notwendig, durch Befruchtungsexperimente festzustellen, innerhalb welcher Grenzen des osmotischen Druckes die Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen erhalten bleibt. Weiter aber konnte unter Umständen auch aus der Größe der Befruchtungsziffer ein zahlenmäßiger Ausdruck für den Grad der Schädigung erwartet werden. Um nun eine besondere Schädlichkeit durch die *chemischen* Eigenschaften des verwendeten Salzes auszuschalten, wird  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  zur Vorbehandlung der Spermatozoen verwendet, das sowohl hinsichtlich der Erhaltung der Beweglichkeit der Spermatozoen<sup>4)</sup> als auch bezüglich der Befruchtungsziffer<sup>5)</sup> die günstigsten Resultate liefert. In der Tabelle I sind

<sup>1)</sup> *Rauber*, Sitzungsberichte der Naturforschenden Gesellschaft. Leipzig 1885.

<sup>2)</sup> *O. Hertwig*, Jenaische Zeitschr. f. Naturwissenschaften **24**, 1890; Sitzungsberichte der Berliner Akademie der Wissenschaften 1894.

<sup>3)</sup> *Ernst Gellhorn*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **185**, 277. 1920.

<sup>4)</sup> *Ernst Gellhorn*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **193**, 555. 1922.

<sup>5)</sup> *Ernst Gellhorn*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **196**.

die Ergebnisse von drei Versuchen mitgeteilt, in denen Lösungen von  $\frac{1}{5}$  bis  $\frac{1}{200}$  Normalität während 30—55 Minuten auf die Spermatozoen einwirkten. Man erkennt sofort die große Schädlichkeit hypertotonischer Lösungen. Denn in  $\frac{n}{5}$ - $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  verbliebene Spermatozoen können nur ganz vereinzelt normale Eier befruchten. Verwendet man  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  in fast isotonischer Lösung ( $\frac{1}{10}$  normal), so zeigt sich bei länger dauernder Vorbehandlung ebenfalls eine starke Schädigung der Spermatozoen. So ist z. B. im Versuch 8 nach 55 Minuten dauernder Einwirkung überhaupt keine Befruchtung zustande gekommen. Bei kürzerer Einwirkungszeit ist noch bis zu rund 50% Befruchtung möglich. Wie aber die Tabelle zeigt, steigt die Befruchtungsziffer mit steigender Hypotonie. Zwischen  $\frac{n}{20}$  und  $\frac{n}{40}$  normaler Lösung bestehen keine wesentlichen Unterschiede<sup>1)</sup>. Vermindert man den osmotischen Druck noch weiter, so zeigt bei relativ kurzer Einwirkungszeit (35 Minuten) die Befruchtungsziffer das Maximum (100%), bei längerer Einwirkung nimmt sie wieder etwas ab. Bemerkenswert ist aber, und dies konnte auch in weiteren Versuchen bestätigt werden, daß in  $\frac{1}{200}$ -Normallösungen die Befruchtungsziffer stets besser ist als in  $\frac{1}{10}$ -Normallösung und dies Resultat gilt ebenso für  $\text{NaCl}$  wie für  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Durch diese Versuche ist also bewiesen, daß nicht eine isotonische, sondern eine ziemlich stark hypotonische Lösung die Spermatozoen am besten unversehrt läßt, so daß sie in sehr hohem Prozentsatz befruchten. Es ist nun schon seit langem bekannt, daß gerade Spermatozoen starke Veränderungen des osmotischen Druckes vertragen. Immerhin ist den älteren Versuchen von *Kölliker*<sup>2)</sup> gegenüber zu bemerken, daß die Beobachtungszeit wie bereits früher<sup>3)</sup> hervorgehoben, eine viel zu kurze ist und deshalb nichts über die Lebensdauer der Spermatozoen besagt. Wenn wir auch die Befunde *Galeotti*<sup>4)</sup> nicht bestätigen konnten, daß die Spermatozoen von Tieren mit innerer Begattung wesentlich empfindlicher gegenüber Schwankungen des osmotischen Druckes sein sollen als solche mit äußerer Befruchtung (z. B. Amphibien), — denn auch die Spermatozoen des Meerschweinchens vertragen eine Verminderung des osmotischen Druckes auf  $\frac{1}{3}$  der Isotonie<sup>5)</sup> —, so möchte ich doch

<sup>1)</sup> Aus diesem Grunde scheint auch eine genaue Berechnung des optimalen osmotischen Druckes kaum möglich. Ebensowenig ist eine Berücksichtigung des etwas höheren osmotischen Druckes von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  im Verhältnis zu  $\text{NaCl}$  notwendig.

<sup>2)</sup> *Kölliker*, Zeitschr. f. wissensch. Zool. 7, 201. 1856.

<sup>3)</sup> *Ernst Gellhorn*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 185, 279, Anm. 1920.

<sup>4)</sup> *Galeotti*, cit. n. *Godlewski* i. Handb. d. vergleich. Phys. Bd. III, 2. Hälft., S. 585.

<sup>5)</sup> *Ernst Gellhorn*, l. c. S. 278. Vielleicht besteht aber in dem Sinne ein Unterschied zwischen Warmblüterspermatozoen (z. B. Meerschweinchens) und den Samenfäden des Frosches, daß erstere nach Vorbehandlung mit hypotonischen Lösungen in ihrer Fähigkeit, normale Eier zu befruchten, geschädigt werden. Experimentelle Erfahrungen liegen aber bisher hierüber nicht vor.

die Deutung *Galeottis* für die Widerstandsfähigkeit der Spermatozoen von *Rana temporaria* als einer Anpassungserscheinung annehmen. Wesentlich aber ist der Nachweis, der erst durch die Befruchtungsversuche erbracht werden konnte, daß die Befruchtungsziffer in stark hypotonischen Lösungen das Optimum zeigt.

Tabelle I.

	Zahl der entwickelten Eier			Gesamtzahl der Eier			Prozentzahl der entwickelten Eier		
1. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ $n/5$	1	1	2	25	30	35	4	3	5
2. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ $n/10$	0	7	19	25	30	35	0	23	54
3. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ $n/20$	16		29	25	30	35	64		83
4. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ $n/30$	20	13	24	25	30	35	80	43	68
5. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ $n/200$	13	13	35	25	30	35	52	43	100
Nummer des Versuches	8	10	13	8	10	13	8	10	13
Dauer der Vorbehandlung in Minuten	55	40	30	55	40	30	55	40	30

Es war nun die weitere Aufgabe, die Bedeutung des osmotischen Druckes für die Befruchtung von Froscheiern festzustellen. Die Methode war die gleiche wie für die Spermatozoen. Es wurden Eier in Uhrschildchen eine bestimmte Zeit in Salzlösungen von verschiedenem osmotischen Druck ausgesetzt, darauf die Lösung abgespült und die Eier mit unvorbehandeltem Sperma befruchtet. Sofort nach der Befruchtung wurden die Eier in Schalen mit 200 cem Brunnenwasser übertragen. Die Ergebnisse sind in Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

	Zahl der entwickelten Eier						Gesamtzahl der Eier						Prozentzahl der entwickelten Eier					
1. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ $n/3$				0	1					30	31					0	3	
2. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ $n/5$	16	6		7	5		25	25		21	34		64	24		33	14	
3. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ $n/10$	25	0					25	25					100	0				
4. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ $n/20$	18	1					25	25					72	4				
5. Na-Acetat $n/10$			32						32						100			
6. Na-Acetat $n/20$			14						25						56			
7. Na-Acetat $n/200$			0						40						0			
8. 0,9% NaCl						13						28						46
9. 0,6% NaCl						11						43						25
10. Aq. dest.			0						40						0			
Nr. des Versuches	30	30a	33	31	31a	25a	30	30a	33	31	31a	25a	30	30a	33	31	31a	25a
Dauer d. Vorbehandlung in Minuten	15	30	20	15	30	30	15	30	20	15	30	30	15	30	20	15	30	30

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß der osmotische Druck auf die Befruchtungsziffer bei vorbehandelten Eiern fast die umgekehrte

Wirkung wie bei Spermatozoen ausübt. *Denn hier zeigt sich, daß mit steigender Hypotonie der Lösung die Befruchtungsziffer abnimmt.* So wurde z. B. niemals nach Vorbehandlung der Eier mit  $1/200$ -Normallösungen ein Befruchtungserfolg erzielt, während andererseits in stark hypertonischen Lösungen ( $n/5$ - $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  und 0,9% NaCl) hohe Befruchtungszahlen gefunden wurden. Auch in etwa isotonischen ( $n/10$ ) oder schwach hypotonischen Lösungen ist die Befruchtungsziffer eine ziemlich hohe, sofern die Dauer der Einwirkung keine zu große ist.

Wenn sich die Dinge, wie eben geschildert, verhalten, so ist anzunehmen, daß, wenn man Spermatozoen und Eier gleichzeitig anisotonischen Lösungen aussetzt, die Befruchtung in stark hyper- und hypotonischen Lösungen einen sehr geringen Erfolg haben wird. In dem ersten Falle wegen der Schädigung der Spermatozoen, im zweiten infolge der Wirkung auf die Eier. Ein Beweis für dieses Verhalten ist durch den Versuch Nr. 34 gegeben, der in Tabelle III wiedergegeben ist.

Tabelle III.

	Zahl der entw. Eier	Gesamtzahl der Eier	Prozentzahl der entw. Eier	Zahl der entw. Eier	Gesamtzahl der Eier	Prozentzahl der entw. Eier	Zahl der entw. Eier	Gesamtzahl der Eier	Prozentzahl der entw. Eier
1. Na-Acetat $n/5$	3	30	10	15	30	50	0	30	0
2. Na-Acetat $n/10$	19	30	63	28	30	93	4	30	13
3. Na-Acetat $n/20$	30	35	85	26	30	87	13	30	43
4. Na-Acetat $n/40$	35	35	100	24	30	80	3	30	10
5. Na-Acetat $n/200$	33	33	100	1	30	3	0	30	0
6. Kontrolle in Brunnenwasser	33	33	100	—	—	—	—	—	—
	Vorbehandlung der Spermatozoen 30 Min.			Vorbehandlung der Eier 20 Min.			Vorbehandelte Spermatozoen (30 Min.) + vorbehandelte Eier (20 Min.).		

Während die Befruchtungsziffer bei Vorbehandlung der Spermatozoen einerseits, der Eier andererseits das typische Verhalten zeigt, — daß die Befruchtungsziffer bei Vorbehandlung der Eier in  $n/5$ -Lösung geringer als in  $n/10$  ist, habe ich öfters beobachtet, z. B. auch in dem Versuch Nr. 30 der Tabelle II; die Überlegenheit der hypertonischen Lösung gegenüber der isotonischen tritt besonders in Versuchen mit länger dauernder Vorbehandlung in Erscheinung — ergibt tatsächlich der Befruchtungsversuch nach Einwirkung anisotonischer Lösungen auf Sperma und Eier das Maximum der Befruchtungsziffer bei einer Lösung mittlerer Konzentration, die einen mäßigen Grad von Hypotonie ( $1/20$  Normal) besitzt. (Vgl. hierzu die graphische Darstellung in Abb. 1.)

Eine Erklärung für das gegensätzliche Verhalten von Spermatozoen und Eiern gegenüber den Schwankungen des osmotischen Druckes dürfte darauf beruhen, daß die Quellung der Eigallerte mit sinkendem

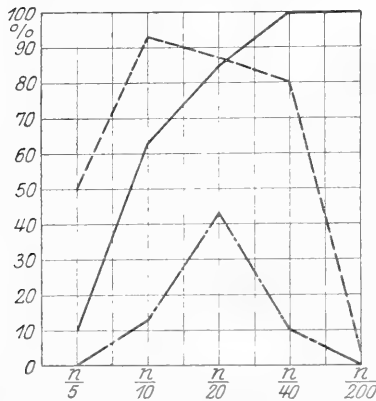


Abb. 1. Die Abszisse gibt die Normalität von Natriumacetat, die Ordinate den Prozentsatz der entwickelten Keime an. Der ausgezogenen Linie liegen Versuche mit alleiniger Vorbehandlung der Spermatozoen, der gestrichelten Kurve solche mit Vorbehandlung der Eier zugrunde. Die — · — · — = Kurve gibt einen Versuch wieder, in dem Spermatozoen und Eier gleichzeitig vorbehandelt wurden.

osmotischen Druck der umgebenden Flüssigkeit zunimmt und so aus mechanischen Gründen dem Eindringen des Spermatozoons Widerstand leistet. Wo eine derartige Gallerte fehlt, wird daher das Verhalten von Spermatozoen und Eiern gegenüber den Veränderungen des osmotischen Druckes wenigstens im Prinzip das gleiche sein. Hierfür geben z. B. die Befunde von *Konopacki*<sup>1)</sup> einen interessanten Beleg. Denn hier verhalten sich die Eier in den Verdünnungen des Seewassers ebenso widerstandsfähig, z. T. sind sie es sogar in höherem Grade, wie die Spermatozoen. In einer Konzentration des Seewassers 50/50 sind nach 20 bzw. 50 Minuten Einwirkungszeit 90 bzw. 60% der Eier noch befruchtungsfähig und entwickeln sich zu normalen Plutei. Bei einer Konzentration 40/60 ist die Zahl der befruchteten Eier etwa die gleiche, die Entwicklung zeigt aber gewisse Störungen, so daß das Pluteusstadium nicht erreicht wird.

Erwähnt sei ferner, daß die befruchteten Eier, die den Tabellen zugrunde gelegt sind, sämtlich das Kaulquappenstadium erreichten und noch mehrere Wochen ohne irgendwelche Störungen erhalten werden konnten. Ganz vereinzelt beobachtete ich Mißbildungen. Die geringe Zahl macht es aber vorerst sehr unwahrscheinlich, daß sie durch die Beeinflussung von Sperma oder Eiern vor der Befruchtung verursacht ist. Ebenso war das Entwicklungstempo, soweit darüber die äußere Betrachtung des Eies mit der binokularen Lupe Aufschluß gibt, ungestört. Nachdem durch unsere Untersuchungen die Grenzen festgestellt sind, innerhalb der die Entwicklung normaler Kaulquappen stattfindet, ist nun die Möglichkeit gegeben, besonders bei Anwendung der Grenzkonzentrationen auf feinere Störungen zu achten.

Eine weitere Versuchsreihe beschäftigt sich mit der Frage, *welche Änderungen des osmotischen Druckes das befruchtete Ei ertragen kann, ohne in seiner Entwicklung Störungen zu erleiden und inwieweit der Zeitpunkt und die Dauer der Einwirkung von Bedeutung sind.* Wir

<sup>1)</sup> *Konopacki*, Arch. f. Entwicklungsmech. **44**, 361. 1918.

scheiden die Versuche in temporäre und Dauer-Versuche. Über erstere gibt Tabelle IV Auskunft.

Tabelle IV.

Dauer der Einwirkung: 24 Stunden.

	Prozentzahl der ent- wickelten Eier	Gesamtzahl der Eier	Zahl der entwickelten Eier	Gesamtzahl der Eier	Prozentzahl der ent- wickelten Eier
1. Brunnen- wasser	70%	ca. 300			
2. 2% NaCl	0	ca. 300			
3. 0,9% NaCl	} etwa 70%	ca. 300	0	30	0
4. 0,6% NaCl		ca. 300	0	30	0
5. 0,3% NaCl		ca. 300	15	30	50
6. Aq. dest.		ca. 300	29	30	97
Zeitpunkt der Einwirkung	Etwa 12 Std. nach der Befruchtung <sup>1)</sup>		Sofort nach der Befruchtung		
Nummer des Versuches	7		21		

Aus diesen Versuchen geht unzweifelhaft hervor, daß der Zeitpunkt, in dem das befruchtete Ei der Einwirkung von Kochsalzlösungen verschiedenen osmotischen Druckes ausgesetzt wird, von entscheidender Bedeutung für die Entwicklung des Eies ist. Je näher er der Befruchtung liegt, um so stärker ist die Schädigung des Eies. Man könnte nun daran denken, daß vielleicht eine Schädigung der Spermatozoen das ungünstige Resultat hervorruft. Das ist aber deshalb auszuschließen, weil nach Einwirkung isotonischer Lösungen auf Spermatozoen stets ein nicht unerheblicher Teil der Eier befruchtet wird, wenn die Dauer der Vorbehandlung 30 Minuten nicht überschreitet. Es liegt deshalb nahe, anzunehmen, daß NaCl das Ei kurz nach der Befruchtung deshalb stärker schädigt, weil die Gallerte noch nicht ausgebildet ist und somit dem Eindringen des Kochsalzes kein Hindernis im Wege steht. Interessant ist die weitere Tatsache, daß zwischen 0,9 und 0,3% NaCl-Lösung keine Unterschiede hervortreten, wenn diese Lösungen erst etwa 12 Stunden nach der Befruchtung einwirken; denn die Befruchtungsziffer ist dieselbe wie in der Kontrolle. Erst bedeutend stärkere Konzentrationen (2%) bewirken auf osmotischem Wege Schrumpfung und vollständige Entwicklungshemmung der Eier. Lassen wir aber Kochsalz sofort nach der Befruchtung auf die Eier einwirken, so bleibt selbst in 0,6proz. Lösung die Entwicklung vollkommen aus; auch in 0,3% NaCl ist erst die Hälfte der Eier normal entwickelt, während die gleich lange Einwirkung von destilliertem Wasser in fast 100% normale Entwicklung zuläßt.

<sup>1)</sup> Zu dem Versuche wurde normal befruchteter Laich verwendet.

Zu diesen Versuchen ist noch zu bemerken, daß die unter der Rubrik „Zahl der entwickelten Eier“ enthaltenen Zahlen die Eier betreffen, die sich zu völlig normalen Kaulquappen entwickelten. Auch nach mindestens 14-tägiger (z. T. auch mehrwöchentlicher Beobachtung) treten an ihnen keine Anomalien auf. Daneben konnte aber noch festgestellt werden, daß in Versuch 21 ein Teil der Eier, die während 24 Stunden in 0,3proz. NaCl-Lösung verblieben, sich zwar entwickelten, aber vor dem Ausschlüpfen auf einem Stadium eingingen, in dem bei äußerer Betrachtung bereits Kiemenspalte, Mund- und Nasengrube differenziert waren.

Endlich wurden noch eine Reihe von Versuchen durchgeführt, in denen Eier teils sofort, teils 24 oder 48 Stunden nach der künstlichen Befruchtung Kochsalzlösungen verschiedener Konzentration (0,3%, 0,6%, 0,7%, 0,9%, 1,2%) bis zum Ausschlüpfen der Kaulquappen ausgesetzt wurden. Sofort nach der Befruchtung ist 0,3% NaCl die höchste unter den untersuchten Kochsalzkonzentrationen, in der es noch zur Entwicklung normaler Kaulquappen kommt (in rund 50%). Die Dauereinwirkung hat also kein ungünstigeres Ergebnis als der temporäre Versuch von 24 Stunden (in Tabelle IV). Läßt man aber die Kochsalzlösungen erst 24 Stunden nach der Befruchtung einwirken, so gelingt es unter Umständen, auch in 0,9% NaCl in einem hohen Prozentsatz normale Kaulquappen zu züchten. Allerdings scheint gerade hypertonischen Lösungen gegenüber die Resistenz der Eier starken Schwankungen zu unterliegen. Denn in einigen Versuchen bleibt die Entwicklung kurze Zeit nach dem Zusatz 0,9proz. NaCl-Lösung stehen und die Keime sterben ab. Und auch in isotonischer Kochsalzlösung geht ein Teil der befruchteten Eier zugrunde, obwohl in manchen Versuchen 100% normale Kaulquappen erhalten werden konnten.

Die Tatsache, daß befruchtete Eier in verschiedenen Entwicklungsstadien eine ungleiche Resistenz gegenüber bestimmten Reizen (z. B. osmotischen Drucken) besitzen, ist nicht neu. So hat z. B. auch *Konopacki*<sup>1)</sup> in seiner mehrfach erwähnten Arbeit derartige Versuche angestellt, die jedoch insofern mit unseren Versuchen schwer vergleichbar sind, als dieser Autor die Eier nur für ganz kurze Dauer (5 Minuten) auf verschiedenen Stadien der Entwicklung hypotonischen Lösungen aussetzte. Seine Dauerversuche über die Wirkung hypotonischer Lösungen ergaben starke Hemmung der Entwicklung mit atypischem Verlauf. Zu den gleichen Ergebnissen waren im wesentlichen auch andere Autoren *Driesch*<sup>2)</sup>, *Conklin*<sup>3)</sup> gelangt, die an *Echinus micro-*

<sup>1)</sup> *Konopacki*, Arch. f. Entwicklungsmech. **44**, 337. 1918.

<sup>2)</sup> *Driesch*, Mitteilungen aus der Zoologischen Station zu Neapel **11**. 1893.

<sup>3)</sup> *Conklin*, Journ. of the Acad. of Natur. Science of Philadelphia **15**. 1912.



tuberculatus bzw. *Crepidula* experimentiert hatten. Auch *J. Loeb*<sup>1)</sup> erwähnt, daß *Arbacia*eier im *Gastrula*-Stadium resistenter gegenüber anisotonischen Lösungen als eben befruchtete Eier.

Eine genauere Untersuchung der Hemmungsmißbildungen mußte aus äußeren Gründen unterbleiben. Über die mikroskopischen Veränderungen sind wir ja auch durch die Untersuchungen *O. Hertwigs*<sup>2)</sup> hinreichend unterrichtet. Uns interessierte hier im wesentlichen nur die Variationsbreite, innerhalb der die Entwicklung keine Störungen aufweist. So erhalten wir Eier, die als durchaus normal anzusehen sind und die ein geeignetes Material zum Studium der Wirkungen des osmotischen Druckes auf bestimmte Funktionen der Eizelle abgeben.

#### *Diskussion der Ergebnisse.*

Es sind im wesentlichen zwei Tatsachen, die zu erklären und in die auch die an anderen Tierarten gewonnenen Ergebnisse einzuordnen sind. Erstens die optimale Bewegungs- und Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen in stark hypotonischen Lösungen, zweitens das differente Verhalten befruchteter Eier gegenüber anisotonischen Lösungen, je nach dem Zeitpunkt — von der Befruchtung ab gemessen —, in dem der Versuch begonnen wird. Was die erste Frage anbetrifft, so wäre die einfachste Erklärung, daß die hypotonischen Lösungen als Reiz auf die Geißelbewegung der Spermatozoen wirken und deshalb erhöhte Beweglichkeit und Lebensdauer, sowie die optimale Befruchtungsziffer bei Verwendung normaler Eier hervorrufen. Zugunsten dieser Erklärung läßt sich auch die Tatsache anführen, daß die Spermatozoen sofort nach der *Zerzupfung* des Hodens im allgemeinen keine hohe Beweglichkeit zeigen; vielmehr beginnt diese erst, wenn das Sperma einige Minuten in hypotonischer Lösung verblieben ist. Wenn auch diese Erklärung richtig sein kann, so dürfte es doch keinem Zweifel unterliegen, daß gewisse allgemein-physiologische Erfahrungen mit ihr im Widerspruch stehen. Wir haben gelernt, die Bedeutung des osmotischen Druckes weniger darin zu suchen, daß er die Wasserbewegung (Sekretion) im Organismus erklären könne, als vielmehr in der Erkenntnis der Wichtigkeit der Isotonie für alle Zellen. Ihrer Aufrechterhaltung dienen alle Mechanismen, die wir unter dem Begriff der Osmoregulation zusammenfassen. Offenbar beruht die günstige Wirkung isotonischer Lösungen auf die Zellen des Organismus in einer Beeinflussung des Zustandes der Zellkolloide. Mit der Änderung des osmotischen Druckes werden diese und damit auch die Durchlässigkeit der Zelle in einer für die Erhaltung der Integrität ungünstigen Weise geändert. Wir müssen also, wenn wir an der oben geäußerten Vorstellung festhalten wollen,

<sup>1)</sup> *J. Loeb*, Arch. f. Entwicklungsmech. **1**, 453. 1895.

<sup>2)</sup> *O. Hertwig*, Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaften **24**. 1890.

eine Sonderstellung für die Spermatozoen des Frosches annehmen (die vermutlich auch für alle anderen im Süßwasser laichenden Tiere gilt) und könnten sie als auf phylogenetischer Basis erworben denken.

Aber diese Erklärung ist nicht die einzig mögliche. Man könnte nämlich daran denken, daß die Anpassung der Froschspermatozoen an das Süßwasser und infolgedessen überhaupt an hypotonische Lösungen in der gleichen Weise zustande komme wie die der Eier. Denn daß die Entwicklung der Froscheier in Brunnenwasser am besten vor sich geht, liegt daran, daß der osmotische Druck des unbefruchteten und des befruchteten Eies völlig verschieden ist.

*Backmann* konnte nämlich gemeinsam mit *Runnström*<sup>1)</sup> und *Sundberg*<sup>2)</sup> für das Froschei und *Bialaszewicz*<sup>3)</sup> für das Hühnerei auf kryoskopischem Wege feststellen, daß mit der Befruchtung des Eies der osmotische Druck erheblich absinkt und sogar mehrere Wochen hindurch vermindert bleibt; erst im Laufe der Embryonalentwicklung steigt er wieder zur normalen Höhe an.

Will man in dem Verhalten der Spermatozoen und der befruchteten Froscheier gegenüber hypotonischen Lösungen nicht nur eine äußere Analogie, sondern auch einen inneren Zusammenhang sehen, so könnte man die Hypothese aufstellen, daß auch die Spermatozoen einen geringeren osmotischen Druck als die übrigen Zellen des Frosches besitzen und daß diese Änderung mit den Reifeerscheinungen in Verbindung steht. Allerdings sprechen die Untersuchungen von *Hamburger*<sup>4)</sup> nicht für diese Anschauung. Dieser Autor findet nämlich bezüglich der Volumenänderungen von Spermatozoen in anisotonischen Lösungen die gleichen Verhältnisse wie bei den Blutkörperchen des Frosches. Man wird aber diese Versuche noch in anderer Weise ergänzen müssen. Es fragt sich nämlich, ob bestimmte Funktionen der Zelle, wie z. B. die Atmung, bei Blutkörperchen und Samenfäden in anisotonischen Lösungen die gleichen Veränderungen erleiden oder nicht. Ich hoffe, hierüber später berichten zu können.

Immerhin ergibt sich aus den Untersuchungen *Backmanns* und seiner Mitarbeiter, sowie aus unseren Befruchtungsversuchen die wichtige Tatsache, daß für die Spermatozoen ebenso wie für die befruchteten Eier von *Rana temporaria* die Verminderung des osmotischen Druckes Vorbedingung des funktionellen Optimums dieser Zellen ist. Der Mechanismus, der zur Verminderung des osmotischen Druckes befruchteter Eier führt, ist aber ebenso wenig bekannt wie die Ursache der Funktionssteigerung der Spermatozoen in hypotonischen Lösungen.

<sup>1)</sup> *Backmann* und *Runnström*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **144**, 287. 1912.

<sup>2)</sup> *Backmann* und *Sundberg*, Ebenda **146**, 212. 1912; **148**, 141. 1912.

<sup>3)</sup> *Bialaszewicz*, Arch. f. Entwicklungsmechanik **34**, 489. 1912.

<sup>4)</sup> *Hamburger*, Osmotischer Druck und Ionenlehre **3**. Wiesbaden 1904.

Aber noch eine Reihe weiterer Fragen ergeben sich aus diesen Untersuchungen. Einmal gilt es zu erforschen, ob die Resistenz der Generationszellen gegenüber Schwankungen des osmotischen Druckes, sowie anderen Reizen wirklich wesentlich größer ist als die anderer Zellen oder ob bei Verwendung *kernhaltiger* Blutkörperchen ähnliche Resultate erhalten werden und deshalb von einer physiologischen Sonderstellung der Spermatozoen nicht gesprochen werden kann.

Weiter wäre dann noch zu untersuchen, ob auch an anderen Zellarten eine Funktionssteigerung durch Verminderung des osmotischen Druckes beobachtet werden kann<sup>1)</sup>. Daß die Vermehrung des osmotischen Druckes in diesem Sinne wirkt, wissen wir ja z. B. aus den Versuchen *J. Loeb's*<sup>2)</sup>, der durch kurze Verwendung hypertotonischer Lösungen Pathogenese erzeugte. Ferner konnte vor kurzem *Ph. Broemser*<sup>3)</sup> nachweisen, daß Erhöhung des osmotischen Druckes die Leitungsgeschwindigkeit im Nerven vergrößert. Andererseits ist aber auch bekannt, daß hypertotonische Lösungen funktionsvermindernd wirken. So zeigten *Vlès* und *Dragoin*<sup>4)</sup>, daß die Zellteilung bei Seeigeleiern durch Erhöhung des osmotischen Druckes gehemmt wird. In gleichem Sinne sind ja auch die älteren Versuche *O. Hertwig's*<sup>5)</sup> über den Einfluß von Kochsalzlösungen verschiedener Konzentration auf die Entwicklung von Froscheiern zu deuten.

Soweit unsere bisherigen Kenntnisse ein Urteil zulassen, ist eine funktionelle Scheidung der Spermatozoen von Tieren mit äußerer von solchen mit innerer Befruchtung, wie sie *Galeotti*<sup>6)</sup> vertritt, daß nämlich die Resistenz der ersteren erheblich die der letzteren überträfe, nicht richtig. Denn aus den Versuchen von *Konopacki*<sup>7)</sup> geht mit großer Deutlichkeit hervor, daß z. B. bei den Spermatozoen von *Strongylocentrotus lividus* die Befruchtungsfähigkeit von Spermatozoen stark abnimmt, wenn sie einige Zeit in verdünntem Meerwasser verbleiben. Bei einer Konzentration des Wassers von 50/50 (Meerwasser : Süßwasser) beträgt z. B. die Zahl der befruchteten Eier nach

10 Min. . . . .	95%
30 Min. . . . .	40%
80 Min. . . . .	10%

<sup>1)</sup> Ich behalte mir vor, über entsprechende Versuche später zu berichten.

<sup>2)</sup> *J. Loeb*, Die chemische Entwicklungsregung des tierischen Eies. Berlin 1909.

<sup>3)</sup> *Th. Broemer*, Zeitschr. f. Biol. **72**, 37. 1920.

<sup>4)</sup> *Vlès* und *Dragoin*, Compt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences. **172**, Nr. 18, S. 1127. 1921. Zit. nach Berichte über die ges. Physiol. **8**, 236. 1921.

<sup>5)</sup> *O. Hertwig*, l. c.

<sup>6)</sup> l. c.

<sup>7)</sup> l. c.

Aber schon bei einer Konzentration 30/70 bleibt nach 15 Minuten Einwirkungszeit die Befruchtung völlig aus, ganz abgesehen davon, daß auch bei geringer Dauer der Vorbehandlung, bei der die Spermatozoen in einem kleinen Prozentsatz zum Teil noch stärkere Verdünnungen vertragen, die Entwicklung der befruchteten Eier niemals das Plutensstadium erreicht. Danach ist die Anpassung an das Milieu, in dem physiologischerweise das Spermatozoon seine Aufgabe zu erfüllen hat, die Ursache für die große Resistenz der Froschspermatozoen. Es wäre interessant, zu untersuchen, ob Unterschiede in dem Quellungsvermögen verschiedener Spermatozoen bestehen. Die Quellung ist für die Spermatozoen des Frosches deshalb so gering und in physiologischer Beziehung ohne großen Belang, weil die Gerüstsubstanz nach *Hamburgers* Untersuchungen 70% beträgt und selbst der Quellung nicht unterworfen sein soll.

Das Verhalten befruchteter Eier in anisotonischen Lösungen scheint nach den Angaben der Literatur für Meerestiere (z. B. Seeigel) und Tiere, die im Süßwasser ablaichen, prinzipiell verschieden zu sein. Für erstere hat *Loeb*<sup>1)</sup> die Zunahme des osmotischen Druckes durch die Befruchtung wahrscheinlich gemacht, während *Backmann*<sup>2)</sup> den entgegengesetzten Vorgang für die Eier des Frosches nachweisen konnte. Aber dieser Gegensatz dürfte nur ein scheinbarer sein; denn der Erfolg ist in jedem Falle der gleiche. Durch die Befruchtung wird nämlich bewirkt, daß der osmotische Druck des befruchteten Eies etwas größer als der des umgebenden Wassers ist, ein Vorgang, der für die Wasseraufnahme des sich entwickelnden Keimes von prinzipieller Bedeutung sein dürfte. Für das verschiedene Verhalten befruchteter Eier gegenüber anisotonischen Lösungen liegen, wie bereits oben erwähnt, auch von anderen Autoren einige Beobachtungen vor. Es scheint mir aber auch für diese Fragen von Vorteil, sich nicht mehr mit der morphologischen Analyse der Keime, die bestimmten anisotonischen Lösungen ausgesetzt waren, zu begnügen und etwa ihre ungleiche Quellbarkeit als Ausdruck ihrer verschiedenen Resistenz anzusehen, wie es *Konopacki*<sup>3)</sup> getan hat, sondern die physiologische Analyse heranzuziehen. In diesem Sinne möchte ich die Änderung des Sauerstoffverbrauches befruchteter Eier in verschiedenen Entwicklungsstadien als Indikator für ihre Resistenz verwenden und auf diese Weise auch in die Ursachen der Resistenzverschiedenheiten einzudringen versuchen.

1) *J. Loeb*, Arch. f. Entwicklungsmech. **1**, 453. 1895.

2) l. c.

3) l. c. Diesen Versuchen gegenüber ist noch besonders zu betonen, daß die Untersuchungen an fixiertem Material vorgenommen sind und deshalb eine einfache Übertragung der Ergebnisse auf den Zustand der lebenden Keime kaum statthaft sein dürfte.

## II. Über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für Befruchtung und Entwicklung.

Einige vorläufige Beobachtungen über die Bedeutung verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen für die Beweglichkeit der Spermatozoen finden sich bereits in meiner ersten Mitteilung<sup>1)</sup> über Spermatozoen. Ich komme auf diese Frage mit Berücksichtigung der Wirkung von Neutralsalzen auf die optimale Wasserstoffionenkonzentration in einer besonderen Mitteilung noch zurück. Hier sollen lediglich die Grenzen der Wasserstoffionenkonzentration festgestellt werden, innerhalb deren die Spermatozoen die Fähigkeit bewahren, normale Eier zur Entwicklung zu bringen. Zweitens sind Versuche angestellt worden, in denen normale Eier mit Lösungen bestimmter ( $H^+$ ) vorbehandelt und darauf mit unverändertem Sperma befruchtet wurden. Endlich wurden normal befruchtete Eier auf verschiedenen Entwicklungsstadien bestimmten ( $H^+$ ) ausgesetzt.

Über die Einfluß der ( $H^+$ ) auf die Fähigkeit der Spermatozoen, normale Eier zu ungestörter Entwicklung zu bringen, gibt Tabelle V eine kurze Übersicht.

Tabelle V.

	Zahl der entwickelten Eier					Gesamtzahl der Eier					Prozentzahl der entwickelten Eier				
	6	3	5			30	30	30			20	10	16		
1. Glykokoll + $HCl^2$ $p_H = 3$	6	3	5			30	30	30			20	10	16		
2. Glykokoll + $HCl$ $p_H = 4$	13	13	5			28	30	30			46	43	16		
3. Glykokoll + $NaOH$ $p_H = 11$	6	5	17			25	30	30			24	16	56		
4. Glykokoll + $NaOH$ $p_H = 12$	7	0	17			25	30	30			28	0	56		
5. Glykokoll + $NaOH$ $p_H = 13$	1	1	6			25	30	30			4	3	20		
6. Brunnenwasser				50	30				50	50				100	60
7. $NaH_2PO_4$ + $Na_2HPO_4$ $p_H = 5$				45	1				50	50				90	2
8. $NaH_2PO_4$ + $Na_2HPO_4$ $p_H = 8$				45	20				50	50				90	40
9. $NaH_2PO_4$ + $Na_2HPO_4$ $p_H = 9$				30	5				50	50				60	10
Nummer des Versuches	8	10	13	16	16a	8	10	13	16	16a	8	10	13	16	16a
Dauer der Vorbehandlung der Spermatozoen in Minuten	55	35	35	40	220	55	35	35	40	220	55	35	35	40	220

Da die Beweglichkeit der Spermatozoen in Glykokoll + Salzsäure von  $p_H = 2$  nur sehr gering ist und nach kurzer Zeit aufhört, wird die Vorbehandlung der Spermatozoen nur innerhalb der  $p_H$  3 und 13 vorgenommen. Außer Glykokollpuffern finden noch Phosphatlösungen Verwendung, dessen günstige Wirkungen auf Beweglichkeit und Erhaltung die Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen früherer Unter-

<sup>1)</sup> Ernst Gellhorn, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **185**, 262. 1920.

<sup>2)</sup> Es wurden stets Puffergemische nach Sørensen verwendet. Die Gesamtkonzentration ist  $1/40$  normal.

suchungen sichergestellt hatten. Glykokoll scheint aber in den gebrauchten Konzentrationen ebenfalls die Beweglichkeit der Spermatozoen etwas zu fördern, da die Lebensdauer der Spermatozoen in Brunnenwasser, dem etwas Glykokoll zugesetzt ist, nicht selten größer als in reinem Wasser ist.

Aus den Versuchen geht hervor, daß selbst eine halbstündige Einwirkung von  $p_{\text{H}} = 13$  die Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen nicht völlig aufhebt. In Versuch Nr. 13 haben sich sogar 20% der Eier zu normalen Kaulquappen entwickelt, die sich von den Tieren des Kontrollversuches in keiner Weise unterschieden. Nach der sauren Seite liegt die Grenzkonzentration etwa bei  $p_{\text{H}} = 3$ . Die Zahl der entwickelten Eier ist in diesen Versuchen im allgemeinen etwas geringer als bei entsprechender Konzentration der OH-Ionen, so daß auch die Froschspermatozoen gegen H-Ionen etwas empfindlicher als gegenüber OH-Ionen sind. Doch ist der Unterschied sicherlich nur gering und gelegentlich können auch die in sauren Lösungen vorbehandelten Spermatozoen in gleichem oder sogar etwas höherem Prozentsatze normale Eier befruchten wie die in entsprechender Alkalilösung befindlichen Samenfäden (vgl. Versuch Nr. 16).

Mit Rücksicht auf die in nicht zu starken Säuren und Laugen beobachtete erhöhte Beweglichkeit der Spermatozoen wurde auch ein Befruchtungsversuch ausgeführt, der die Frage entscheiden sollte, ob auch die Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen in solchen Lösungen länger erhalten bleibt oder eine höhere Befruchtungsziffer als mit den in Brunnenwasser befindlichen Spermatozoen des Kontrollversuches zustande kommt. Aus Versuch 16 und 16a der Tabelle V geht nun hervor, daß dies nicht der Fall ist. Nach relativ kurzer Vorbehandlung der Spermatozoen werden auch mit Phosphatlösungen von  $p_{\text{H}}$  5, 8 und 9 hohe, wenn auch etwas geringere Befruchtungsziffern als im Kontrollversuche erzielt. Verlängert man aber die Dauer der Vorbehandlung bedeutend, so nimmt die Befruchtungszahl besonders in den Versuchen mit  $p_{\text{H}} = 5$  und  $p_{\text{H}} = 9$  wesentlich stärker als in der Kontrolle ab.

Nach der Vorbehandlung der Eier mit Lösungen verschiedener Wasserstoffionenkonzentration wurde diese Flüssigkeit, bevor die Besamung mit normalem Sperma vorgenommen wurde, wie in den früher beschriebenen Versuchen, gründlich mit Brunnenwasser entfernt. Wie aus Tabelle VI ersichtlich ist, besitzen auch die Froscheier eine erhebliche Resistenz gegenüber Säuren und Alkalien. So konnte z. B. im Versuch Nr. 22 sogar bei  $p_{\text{H}} = 3$  und  $p_{\text{H}} = 11$ , wenn die Dauer der Einwirkung 15 Minuten beträgt, die gleiche Befruchtungsziffer wie im Kontrollversuche (Brunnenwasser) erhalten werden.

Dagegen gelang es niemals, Eier, die in Glykokoll + NaOH von  $p_{\text{H}} = 13$  vorbehandelt waren, zur Entwicklung zu bringen. Man sieht also,

daß die Resistenz der Eier gegenüber Säuren und Alkalien nicht wesentlich geringer als die der Spermatozoen ist. Daß in günstigen Fällen auch längere Einwirkung (30 Minuten) von  $p_H = 3$  vertragen wird, zeigt Versuch 25a, in dem eine Befruchtungsziffer von 68% festgestellt werden konnte. Auch in diesen Versuchen entwickelten sich fast sämtliche Eier zu normalen Kaulquappen. Mißbildungen kamen nur ganz vereinzelt vor (einmal auch im Kontrollversuche), so daß ihnen keine Bedeutung beigemessen werden kann.

Tabelle VI.

	Zahl der entwickelten Eier			Gesamtzahl der Eier			Prozentzahl der entwickelten Eier		
1. Brunnenwasser	52			30			83		
2. Glykokoll + NaOH $p_H = 10$	25			30			83		
3. Glykokoll + NaOH $p_H = 11$	25	24		30	50		83	48	
4. Glykokoll + NaOH $p_H = 12$		10			35			28	
5. Glykokoll + NaOH $p_H = 13$		0			50			0	
6. Glykokoll + HCl $p_H = 3$	28	14	34	30	29	50	93	46	68
7. Glykokoll + HCl $p_H = 4$	26	9	11	30	30	50	86	30	22
Nummer des Versuches	22	25	25a	22	25	25a	22	25	25a
Dauer der Vorbehandlung in Minuten	15	15	30	15	15	30	15	15	30

Eine letzte Reihe von Versuchen hat die Feststellung der Grenzkonzentrationen zum Ziel, in dem noch normale Entwicklung stattfinden kann. Wir werden auch bei diesen Versuchen die temporären von den Dauerversuchen zu scheiden haben und den Zeitpunkt, in dem die Einwirkung beginnt, besonders berücksichtigen.

Aus der Tabelle VI, in der die Ergebnisse der temporären Versuche wiedergegeben sind, geht hervor, daß die vorübergehende (3 bzw. 24 Stunden dauernde) Einwirkung von  $1/1000$  n-Säure bzw. Lauge ohne wesentliche Schädigung vertragen wird. Die Befruchtungsziffern sind in Übereinstimmung mit den oben geschilderten Versuchen über die Wirkung des osmotischen Druckes auch in diesen Versuchen größer, wenn der Versuch nicht sofort, sondern nach mehr als 12 Stunden nach der Befruchtung begonnen wird. Ebenso wie die Versuche mit Vorbehandlung der Spermatozoen bzw. der Eier eine größere Schädlichkeit der Säuren gezeigt hatten, ist auch die Zahl der normal befruchteten Eier, die sich in Säuren entwickeln, kleiner als in Laugen von gleicher Normalität. Allerdings sind diese Unterschiede, wie die Tabelle zeigt, bei Verwendung von  $1/1000$  n-Säure und Lauge nur gering, bei zeitweiser Einwirkung von  $1/100$  n-Säure und Lauge treten sie aber deutlich hervor. Hier gelang es nur in einem einzigen Versuche (Nr. 7), einige Eier, die 24 Stunden in  $1/100$  n-Säure verblieben waren, zur Ent-

wicklung zu bringen; während die gleiche Laugenkonzentration einen erheblich höheren Prozentsatz normal entwickelter Eier zuläßt.

Tabelle VII.

	Zahl der entwickelten Eier				Gesamtzahl der Eier				Prozentzahl der entwickelten Eier			
1. Brunnenwasser		—	—	—	} etwa 300	—	—	—	} etwa 70	—	—	—
2. $\frac{n}{1000}$ -NaOH		25	26	28		40	40	30		62	65	93
3. $\frac{n}{100}$ -NaOH		10	11	0		40	40	30		25	27	0
4. $\frac{n}{1000}$ -HCl		22	37	27		40	40	30		55	92	90
5. $\frac{n}{100}$ -HCl		0	0	0		40	40	30		5	0	0
Dauer der Einwirkung in Std.	24	3	3	24	24	3	3	24	24	3	3	24
Beginn der Einwirkung nach der Befruchtung in Std.	etwa 12	sofort	17	sofort	etwa 12	sofort	17	sofort	etwa 12	sofort	17	sofort
Nummer d. Versuchs	7	12	12a	21	7	12	12a	21	7	12	12a	21

Die Dauereinwirkung (72 bis 96 Stunden) von Säuren und Laugen ergibt im wesentlichen die gleichen Resultate. Kurz vor dem Ausschlüpfen der Keime aus der Gallerte wird stets die Lauge bzw. Säure durch Brunnenwasser ersetzt. Werden die Eier gleich nach der Befruchtung in  $\frac{1}{100}$  n-Säure übertragen, so unterbleibt die Entwicklung vollständig. Die Eier quellen sehr stark und die Gallerte zeigt eine starke Trübung. Ebenso sistiert die Entwicklung, wenn die Eier etwa 12 Stunden nach der Befruchtung, für 72 Stunden in  $\frac{1}{100}$  n-HCl gebracht werden. Dagegen wird in einigen Versuchen die Dauerwirkung von  $\frac{1}{100}$  n-NaOH ertragen, wenn die befruchteten Eier erst nach 12 Stunden in diese Lösungen überführt werden. Die Zahl der entwickelten Eier betrug in zwei Versuchen 20 bzw. 30%, während in Brunnenwasser 80 bzw. 95% sich entwickelt hatten. Bei Verwendung von  $\frac{1}{1000}$  n-HCl bzw. NaOH ergeben sich die gleichen Befunde wie nach temporärer Einwirkung. In einigen Versuchen konnten sogar 100% normale Kaulquappen festgestellt werden.

Auch in diesen Versuchen wurden nur ganz vereinzelt Mißbildungen beobachtet. Dagegen gelingt es regelmäßig sogar ganz groteske Mißbildung zu erzeugen, wenn man befruchtete Eier in destilliertes Wasser überträgt. Bereits *Rauber*<sup>1)</sup> hatte die Beobachtung gemacht, daß normal befruchtete Eier sich in destilliertem Wasser entwickeln können. Läßt man aber die Eier mehr als 48 oder 72 Stunden in Aq. dest., so beobachtet man, daß fast sämtliche Keime sich zu Ödemtieren entwickeln, wie sie *O. Hertwig*<sup>2)</sup> bei seinen Studien über die physikalische

1) *Rauber*, Sitzungsber. d. Naturforsch. Ges., Leipzig 1885.

2) *O. Hertwig*, Sitzungsber. d. Kgl. Pr. Akademie 20. VI. 1912 u. 12. VI. 1913.



und chemische Beeinflussung des Idioplasmas beobachtet hatte. Abb. 2 gibt hierfür ein Beispiel, in dem sofort die gewaltige Auftreibung des Leibes auffällt. Dabei können diese Mißbildungen, sofern sie rechtzeitig aus dem destillierten Wasser entfernt werden, noch mehrere Tage am Leben bleiben und sogar lebhaft Schwimmbewegungen aufweisen. Ferner sei noch die interessante Beobachtung erwähnt, daß die vorübergehende (24 bis 48 Stunden) Einwirkung von destilliertem Wasser eine deutliche Entwicklungsbeschleunigung hervorruft, ein Befund, auf den ich später noch genauer zurückkommen werde.

Vergleichen wir unsere Ergebnisse an *Rana temporaria* mit den Versuchen *J. Loeb's*<sup>1)</sup> über die Entwicklung von *Arbacia* und *Fundulus* in Säuren bzw. Alkalien, so zeigen die Eier von *Arbacia* etwa die gleiche Resistenz; dagegen ist diese bei *Fundulus* erheblich größer. Denn *Funduluseier* entwickeln sich noch in Süßwasser, dem auf 100 ccm 12—15 ccm  $\frac{1}{10}$  n-NaOH hinzugefügt ist. Und auch in diesen Versuchen zeigt sich die erheblich schädlichere Wirkung der H-Ionen, da schon bei Zusatz von 1 cm  $\frac{1}{10}$  n-HCl die Mehrzahl der Eier abgetötet werden.

#### Zusammenfassung.

1. Werden die Spermatozoen von *Rana temporaria* anisotonischen Lösungen etwa 30 bis 50 Minuten ausgesetzt und darauf zur Besamung normaler Eier verwendet, so steigt die Befruchtungsziffer mit fallendem osmotischen Druck. Etwa die umgekehrte Kurve ergibt sich, wenn die Eier vorbehandelt und darauf mit normalem Sperma besamt werden. Bei gleichzeitiger Vorbehandlung der Spermatozoen und der Eier zeigt die Befruchtungsziffer in mittleren Konzentrationen ( $\frac{n}{20}$ ) das Maximum.

2. Normal befruchtete Eier werden teils sofort nach der Befruchtung, teils 12 bis 24 Stunden später vorübergehend oder bis zum Ausschlüpfen der Kaulquappen aus der Gallerte in Kochsalzlösungen verschiedener Konzentration überführt. Hierbei zeigt sich, daß mehr als 0,3% Kochsalzlösungen sofort nach der Befruchtung die Entwicklung aufheben. Werden aber die Eier 12 bis 24 Stunden nach der Befruchtung in Kochsalzlösungen übertragen, so entwickeln sich noch in 0,9% NaCl normale Kaulquappen.



Abb. 2. Ödemtiere, durch 72stündige Einwirkung von destilliertem Wasser auf normal befruchtete Eier entstanden. Die oben rechts abgebildete Kaulquappe ist ein normales Kontrolltier.

<sup>1)</sup> *I. Loeb*, Arch. f. Entwicklungsmechanik 7. 631. 1898.

3. Zur Feststellung der Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Befruchtung werden Spermatozoen und Eier mit verschiedenen Puffergemischen (Glykokoll + Salzsäure bzw. Natronlauge und Phosphatgemischen nach *Sörensen*) vorbehandelt und darauf die Befruchtung ausgeführt. Mit vorbehandelten Spermatozoen werden normale Eier besamt und zur Besamung vorbehandelter Eier normales Sperma verwendet. Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß die Grenzen, innerhalb deren normale Entwicklung noch zustandekommt, für die Spermatozoen bei  $p_{\text{H}} = 3$  und  $p_{\text{H}} = 13$  und für die Eier bei  $p_{\text{H}} = 3$  und  $p_{\text{H}} = 12$  liegen, wenn die Konzentration der Puffer  $1/40$  normal ist.

4. In  $1/1000$  n-HCl und n-NaOH wird die Entwicklung befruchteter Eier nicht gehindert. In stärkeren ( $1/100$  n) Konzentrationen von HCl wird die Entwicklung fast stets unterdrückt und die Eier sterben ab, auch wenn die Einwirkung nur vorübergehend (3 bzw. 24 Stunden) währt. Dagegen entwickeln sich in  $1/100$  n-NaOH bis zu 30% normale Kaulquappen. Auch in diesen Versuchen zeigt sich eine Zunahme der Resistenz an 12 oder 24 Stunden alten Keimen gegenüber eben befruchteten Eiern.

5. In sämtlichen Versuchen fehlen Anzeichen für eine Beeinflussung des Idioplasmas im Sinne *O. Hertwigs*.

6. Wenn befruchtete Eier in destilliertes Wasser für etwa 72 Stunden übertragen werden, so erhält man regelmäßig Mißbildungen, die den Ödemptieren *O. Hertwigs* vollständig gleichen.

(Aus dem Institut für vegetative Physiologie der Universität Frankfurt.)

## Über den Einfluß unterschwelliger elektrischer Reizung auf den Permeabilitätszustand von Frostmuskeln.

Von  
**Hermann Weiss.**

Ausgeführt mit Unterstützung der Manfred Bernhard Schiff-Stiftung.

(Eingegangen am 25. Juni 1922.)

In mehreren, früher veröffentlichten Arbeiten wurde festgestellt, daß die im Anschluß an stärkere Muskularbeit auftretende Ermüdung von Frostmuskeln — wenigstens zum Teil — auf eine Änderung des Permeabilitätszustandes und der Alterationsfähigkeit von membranartigen Muskelfasergrenzschichten zurückzuführen ist.

Es zeigte sich nämlich, daß während der Ermüdung der Austritt von Phosphorsäure aus dem Muskelinnern verstärkt<sup>1)</sup> und der Eintritt von Kalium-Ionen aus der Umgebungsflüssigkeit beschleunigt ist. Das Letztere wurde aus dem beschleunigten Eintritt der Kali-Lähmung beim Aufenthalt des Muskels in abnorm kalihaltigen Flüssigkeiten erschlossen<sup>2)</sup>.

Mit dem Aufhören der Ermüdung verschwindet die vermehrte Phosphorsäureausscheidung und gleichzeitig der schnellere Eintritt der Kalium-Ionen wieder. Daraus wurde auf die Wiederherstellung des Zustandes geringer Permeabilität geschlossen.

In einer kürzlich von mir veröffentlichten Arbeit<sup>3)</sup> wurde nun geprüft, wie der Permeabilitätszustand der membranartigen Grenzschichten sich bei der elektrischen Durchströmung mit konstantem Strom, ohne daß irgendeine Kontraktion eintrat, verhält. (Um jeden Einzelreiz zu vermeiden, wurde mit einem Schieberreostaten der Strom ein- und ausgeschlichen.)

Auch hier wurde eine reversible Erhöhung des Permeabilitätszustandes gefunden, die zeitlich an eine reversible Erregbarkeitsminderung gebunden war.

Es lag nunmehr nahe, zu untersuchen, ob auch bei der Reizung mit unterschwelligem Einzelinduktionsschlägen den eben geschilderten ähnliche Änderungen an den Muskelfasergrenzschichten eintreten. Derartige Untersuchungen bilden den Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

<sup>1)</sup> *Embden, G. und E. Adler, Zeitschr. f. physiol. Chemie* **118**, 1. 1922.

<sup>2)</sup> *Vogel, Zeitschr. f. physiol. Chemie* **118**, 50. 1922.

<sup>3)</sup> *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **194**, Heft 1/2. 1922.

*Methodik:*

Zu den Versuchen wurden die Musculi gastrocnemii und semimembranosi, von denen letztere sich in meinen früheren Versuchen als wesentlich besser geeignet erwiesen hatten, verwandt. Die Muskeln waren gerade so wie in der oben erwähnten Arbeit von *Emden* und *Adler* an zwei als Elektroden dienenden Platinhaken aufgehängt. Beim Gastrocnemius wurde der obere Haken im Muskel, der untere in der Achillessehne befestigt, während beim Semimembranosus beide Haken in der Muskelsubstanz angebracht waren.

Die obere Elektrode war mit einem Schreibhebel verbunden, der die Muskelbewegungen auf einem Kymographion registrierte. Der Muskel war mit dem Sekundärkreis eines Induktionsapparates verbunden, dessen primärer Kreis durch einen Metronomunterbrecher geschlossen und geöffnet werden konnte.

In jedem Versuche wurden die beiderseitigen gleichartigen Muskeln, die sich in 15 ccm sauerstoffdurchperlter Ringerlösung (0,6% NaCl, 0,02% KCl, 0,02% CaCl<sub>2</sub>, 0,02% NaHCO<sub>3</sub>) im *Kopyloffs*chen Gefäße befanden (siehe *Emden* und *Adler* a. a. O.), mit einander verglichen. In früher geschilderter Weise wurde zunächst abgewartet, bis die unter der Einwirkung des Präparationsreizes vermehrte Phosphorsäureausscheidung soweit abgeklungen war, daß an die Ringerlösung während einer Stunde keine erkennbare Phosphorsäuremenge abgegeben wurde.

Nunmehr wurde der Induktionsapparat in Tätigkeit gesetzt, und der eine der beiden Muskeln während einer Stunde mit etwa 90 durchaus unterschwelligen Induktionsschlägen pro Minute durchströmt. Es wurde natürlich streng darauf geachtet, daß während der ganzen Durchströmung keinerlei Kontraktionserscheinungen auftraten.

Die Temperatur des zur Kühlung verwandten Leitungswassers betrug ca. 15°. Vor der Reizung mit unterschwelligen Induktionsschlägen waren die Zuckungshöhen beider Muskeln bei einem bestimmten Rollenabstand miteinander verglichen worden, wobei die beiden Muskeln nebeneinander geschaltet waren.

Zum Durchströmungsversuch wurden nur Muskeln benutzt, die bei der Vorprüfung annähernd gleiche Zuckungshöhen zeigten, wobei auch ihr nach der Phosphorsäureausscheidung beurteilter Permeabilitätszustand ein sehr ähnlicher war.

Nach Ablauf der einstündigen Periode unterschwelliger Reizung wurden die Ringerlösungen beider Muskelgefäße auf Phosphorsäure untersucht und die Zuckungshöhen genau in der gleichen Weise wie in der Vorperiode miteinander verglichen. Hierauf folgte nun in einem Teile der Versuche eine Erholungsperiode von ebenfalls einstündiger Dauer in frischer Ringerlösung, wonach Phosphorsäureausscheidung und Kontraktilität erneut geprüft wurden. In einem anderen Teil der Versuche kamen beide Muskeln unmittelbar nach Abschluß der Durchströmung gleichzeitig in isotonische Kaliumsulfatlösung (1,57%) oder in ein Gemisch von Ringerlösung mit isotonischem Kaliumsulfat zu gleichen Teilen, wobei festgestellt wurde, welche Zeit bis zur vollkommenen Unerregbarkeit jedes Muskels für den von vornherein angewandten Rollenabstand verstrich. Die Reizung erfolgte bei beiden Muskeln stets gleichzeitig, aber so selten wie möglich, um den Lähmungseintritt nicht zu beschleunigen<sup>1)</sup>.

Bei den meisten Versuchen wurden in den einzelnen Perioden die Muskeln miteinander vertauscht in der Weise, daß der zuerst durchströmte Muskel später als Kontrolle diente und umgekehrt.

*Versuchsergebnisse.*

Ich lasse zunächst den Protokollauszug eines Versuches am Semimembranosus folgen:

<sup>1)</sup> Siehe hierüber *Vogel* a. a. O. u. *Behrendt*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **118**. 1922.

Versuch 1 (Versuch 7 des Protokolls).

Datum	Bemerkungen über Versuchsanordnung etc.	Muskel A		Muskel B	
		Phosphorsäurereaktion	Zuckungshöhe in mm	Phosphorsäurereaktion	Zuckungshöhe in mm
13. X. 21					
8 <sup>h</sup> 00' a. m.	2 Semimembranosi von Rana esculenta (klein) eingespannt, Apparate mit je 15 ccm R. L. gefüllt, O <sub>2</sub> -Zufuhr, beide gut erregbar . . . . .	—	71	—	70
bis 9 <sup>h</sup> 30'	beide Muskeln gut ausgewaschen . . . . .	—	—	—	—
3 <sup>h</sup> 00' p. m.	R. L. gewechselt . . . . .	Trübung	66	Trübung	66
bis 3 <sup>h</sup> 30'	R. L. gewechselt . . . . .	—	—	—	—
4 <sup>h</sup> 30'	R. L. gewechselt . . . . .	klar	—	klar	—
4 <sup>h</sup> 45'	R. L. gewechselt. Periode I: Muskel A 1 Std. dauernd unterschwellig gereizt 6,5 R. A. 90 Reize pro Minute. Muskel B bleibt ungereizt . . . . .	—	—	—	—
5 <sup>h</sup> 45'	R. L. gewechselt . . . . .	Trübung	55	klar	66
5 <sup>h</sup> 48'	beide Muskeln kommen in K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> und R. L. zu gleichen Teilen. Kontraktur, die allmählich zurückgeht. Der unterschwellig gereizte Muskel zeigt die geringere Kontraktur bei Einbringung in K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> . . . . .	—	—	—	—
5 <sup>h</sup> 50'	gereizt . . . . .	—	39	—	38
5 <sup>h</sup> 52'	gereizt, nach Abnahme der Kontraktur . . . . .	—	68	—	53
5 <sup>h</sup> 55'	" . . . . .	—	38	—	25
5 <sup>h</sup> 58'	" . . . . .	—	9	—	32
5 <sup>h</sup> 59'	" . . . . .	—	gelähmt	—	13
6 <sup>h</sup> 02'	" . . . . .	—	"	—	8
6 <sup>h</sup> 05'	" . . . . .	—	"	—	5
6 <sup>h</sup> 06'	" . . . . .	—	"	—	flimmern
6 <sup>h</sup> 07'	" . . . . .	—	"	—	gelähmt
6 <sup>h</sup> 08'	beide Muskeln kommen in R. L. und werden gut ausgewaschen. Nachts O <sub>2</sub> -Zufuhr . . . . .	—	—	—	—
4. X. 21.					
7 <sup>h</sup> 40' a. m.	R. L. gewechselt . . . . .	starke Trübung	56	starke Trübung	55
		Nachtausscheidung		Nachtausscheidung	
bis 8 <sup>h</sup> 15'	R. L. öfter gewechselt . . . . .	—	—	—	—
9 <sup>h</sup> 15'	R. L. gewechselt . . . . .	klar	—	klar	—
9 <sup>h</sup> 20'	Periode 2: Muskel B 1 Std. dauernd unterschwellig gereizt 6,5 R. A. 90 Reize pro Min. Muskel A Kontrolle . . . . .	—	—	—	—
10 <sup>h</sup> 20'	R. L. gewechselt . . . . .	klar	56	Trübung	45

## Versuch 1 (Fortsetzung)

Datum	Bemerkungen über Versuchsanordnung etc.	Muskel A		Muskel B	
		Phosphorsäure-reaktion	Zuckungshöhe in mm	Phosphorsäure-reaktion	Zuckungshöhe in mm
14. X. 21					
10 <sup>h</sup> 25'	beide Muskeln kommen in das Gemisch von K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> und R. L. Kontraktur, die allmählich zurückgeht . . . . .	—	—	—	—
10 <sup>h</sup> 26'	gereizt . . . . .	—	37	—	19
10 <sup>h</sup> 27'	" . . . . .	—	34	—	37
10 <sup>h</sup> 28'	gereizt, nach Abnahme der Kontraktur	—	48	—	31
10 <sup>h</sup> 29'	" . . . . .	—	38	—	7
10 <sup>h</sup> 30'	" . . . . .	—	29	—	gelähmt
10 <sup>h</sup> 33'	" . . . . .	—	17	—	"
10 <sup>h</sup> 34'	" . . . . .	—	5	—	"
10 <sup>h</sup> 35'	" . . . . .	—	gelähmt	—	"

Schluß des Versuches.

Das Ergebnis des geschilderten Versuches ist folgendes:

Nach Periode I, in der Semimembranosus *A* unterschwellig gereizt wurde, Muskel *B* ungereizt blieb, zeigte sich bei dem gereizten Muskel deutliche Phosphorsäureausscheidung, während er in der gleichlangen Vorperiode keine erkennbare Phosphorsäuremengen an die Ringerlösung abgegeben hatte und auch der ungereizte Kontrollmuskel keine Phosphorsäureausscheidung aufwies. Ferner zeigte sich nach der Reizungsperiode I des Versuches beim gereizten Muskel *A* eine Abnahme der Zuckungshöhe um 11 mm, während die des Kontrollmuskels die gleiche wie in der Vorperiode geblieben war. Nachdem sodann beide Muskeln in das Gemisch von Ringerlösung und isotonischer Kaliumsulfatlösung gekommen waren, wurde der gereizte Muskel *A* bereits nach 11 Min. unerrregbar, bei Muskel *B* dagegen trat vollständige Lähmung erst nach 19 Min. ein. Die Periode II am nächsten Tage, in der die Versuchsbedingungen umgekehrt waren, gab das entsprechende Ergebnis. Der gereizte Muskel *B* zeigte nach der unterschwelligen Reizung deutlich Phosphorsäureausscheidung, Abnahme der Zuckungshöhe (um 10 mm), während bei Muskel *A*, der als ungereizte Kontrolle diente, keinerlei Phosphorsäureausscheidung bemerkbar war und die Zuckungshöhe unverändert blieb. Die Kalilähmung trat beim Kontrollmuskel nach 10 Min. ein, während der unterschwellig gereizte Muskel bereits nach 5 Min. gelähmt war.

Ebenso wie in diesem ergab sich auch in einigen weiteren, hier nicht im Einzelnen zu schildernden Versuchen am Semimembranosus, daß der nach der unterschwelligen Reizung eintretende Erregbarkeitsverlust mit einer deutlich erkennbaren Phosphorsäureausscheidung verknüpft war.

Versuch 2 (Versuch 4 des Protokolls).

	Bemerkungen über Versuchsanordnungen etc.	Muskel A		Muskel B	
		Phosphorsäure-reaktion	Zuckungshöhe in mm	Phosphorsäure-reaktion	Zuckungshöhe in mm
7. X. 21					
8 <sup>h</sup> 00' a. m. bis 11 Uhr	2 Gastrocnemien von <i>Rana esculenta</i> (mittelgroß) eingespannt, Apparate mit je 15 ccm Ringerlösung (R.-L.) gefüllt, O <sub>2</sub> -Zufuhr, beide Muskeln gut erregbar. R.-L. öfters gewechselt .	—	52	—	52
3 <sup>h</sup> 30' p. m. bis 4 Uhr	R.-L. gewechselt . . . . . öfterer Wechsel der R.-L. . . . .	stark	34	stark	35
5 <sup>h</sup> 00' p. m. 5 <sup>h</sup> 10' p. m.	R.-L. gewechselt . . . . . Ringerlösung gewechselt. Periode I, Muskel B 1 Std. unterschwellig gereizt, 7 cm Rollenabstand (R.-A.) 90 Induktionsschläge pro Minute. Muskel A bleibt ungereizt . . . . .	klar	33	klar	33
6 <sup>h</sup> 10' 6 <sup>h</sup> 12'	R.-L. gewechselt . . . . . Beide Muskeln kommen in 15 ccm, eines Gemisches von gleichen Teilen isotonischer Kaliumsulfatlösung und R.-L. Sie zeigen Kontrakturen, die allmählich zurückgehen . . . . .	klar	33	klar	30
6 <sup>h</sup> 13' 6 <sup>h</sup> 15' 6 <sup>h</sup> 17'	gereizt . . . . . " . . . . . " beiderseits haben die Kontrakturen abgenommen . . . . .	— — —	12 9	— —	11 10
6 <sup>h</sup> 18' 6 <sup>h</sup> 20' 6 <sup>h</sup> 21' 6 <sup>h</sup> 23' 6 <sup>h</sup> 24' 6 <sup>h</sup> 25'	gereizt . . . . . " . . . . . " . . . . . " . . . . . " . . . . . " . . . . . beide Muskeln kommen in R.-L., werden öfters ausgewaschen, nachts O <sub>2</sub> -Zufuhr	— — — — — —	22 12 8 3 — Flimmern gelähmt	— — — — —	14 gelähmt " " " "
8. X. 21					
7 <sup>h</sup> 20'	R.-L. gewechselt . . . . .	starke Trübung (Nachtausscheidung)	—	starke Trübung (Nachtausscheidung)	—
bis 7 <sup>h</sup> 40'	R.-L. öfters gewechselt . . . . .	—	—	—	—
8 <sup>h</sup> 40' 8 <sup>h</sup> 40'	R.-L. gewechselt . . . . . Periode 2: Muskel A 1 Std. unterschwellig gereizt, 7 ccm R.-A. 90 Induktionsschläge pro Min. Muskel B bleibt ungereizt	klar	30	klar	30
9 <sup>h</sup> 40' 9 <sup>h</sup> 42'	R.-L. gewechselt . . . . . beide Muskeln kommen gleichzeitig in das Gemisch von K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> und R.-L. Kontraktur . . . . .	fast klar	24	klar	30

	Bemerkungen über Versuchsanordnungen etc.	Muskel A		Muskel B	
		Phosphorsäure-reaktion	Zuckungshöhe in mm	Phosphorsäure-reaktion	Zuckungshöhe in mm
9 <sup>h</sup> 43'	gereizt. . . . .	—	6	—	12
9 <sup>h</sup> 44'	" . . . . .	—	gelähmt	—	12
9 <sup>h</sup> 45'	" (nach Abnahme der Kontraktur)	—	"	—	17
9 <sup>h</sup> 47'	" . . . . .	—	"	—	11
9 <sup>h</sup> 48'	" . . . . .	—	"	—	flimmern
9 <sup>h</sup> 49'	" . . . . .	—	"	—	gelähmt

Schluß des Versuches.

Im Prinzip ganz gleichartig verliefen auch die Versuche am Gastrocnemius, wenngleich ganz ähnlich, wie ich schon in meinen früheren Versuchen mit konstantem Strom gefunden hatte, sich die Permeabilitätssteigerung weniger deutlich als am Semimembranosus zu erkennen gab. Dies stimmt ganz mit der von *Behrendt* auf Grund seiner Versuche entwickelten Anschauung überein, daß die Grenzschichten des Semimembranosus zarter und alterationsfähiger als die des Gastrocnemius sind. Auch für einen Gastrocnemiusversuch sei aus einer größeren, im wesentlichen gleichartig verlaufenen Versuchsreihe ein Beispiel im vorstehenden Protokollauszug wiedergegeben.

In dem vorstehenden Versuche wurden die beiden Gastrocnemien eines Frosches, die sich in bezug auf Phosphorsäureausscheidung und Erregbarkeit ungefähr gleich verhielten, unterschwellig gereizt, und zwar so, daß am ersten Tage Muskel *A* als Kontrolle diente, Muskel *B* gereizt wurde, während am folgenden Tage umgekehrt Muskel *A* gereizt wurde, und Muskel *B* zum Vergleich sich außerhalb des sekundären Stromkreises des Induktoriums befand. Dabei zeigte sich nach Periode I am ersten Tage des Versuches, daß die Erregbarkeit des unterschwellig gereizten Muskels *B* (allerdings nur wenig) abgenommen hatte (um 3 mm), während die Erregbarkeit des Kontrollmuskels die gleiche geblieben war. Die Phosphorsäureausscheidung beider Muskeln hatte sich nicht erkennbar geändert. Jedoch trat an dem unterschwellig gereizten Muskel *B* die unmittelbar nach der Reizung eingeleitete Kalilähmung weitaus schneller als am ungereizten Kontrollmuskel ein. (Muskel *B* war 6 Minuten, Muskel *A* erst 12 Minuten nach Einbringen in Kalilösung völlig gelähmt.) Über Nacht erholte sich Muskel *B* wieder völlig. Er zeigte die gleiche Zuckungshöhe wie Muskel *A*.

Nach der zweiten Periode unterschwelliger Reizung am nächsten Tage, in der Muskel *A* gereizt wurde, war das Resultat umgekehrt. Die Zuckungshöhe dieses Muskels nahm nach der Reizung ab (um 6 mm), während sich die von *B* nicht änderte. Auch Phosphorsäureausscheidung des gereizten Muskels war — im Gegensatz zum Verhalten des un-



gereizten — eben erkennbar. Deutlicher zeigte sich auch jetzt wieder die Änderung des Permeabilitätszustandes durch das verschieden schnelle Eintreten der Kalilähmung: Muskel *A* war bereits nach 1 Minute unerregbar, bei dem Kontrollmuskel *B* dauerte es 6 Minuten, bis völlige Lähmung eingetreten war.

Nach der unterschwelligem Reizung ergibt sich beim *Musculus gastrocnemius* demnach eindeutig ein schnellerer Eintritt der Kalilähmung, sowie eine geringe Abnahme der Erregbarkeit. Dies konnte — wie bereits erwähnt — durch die Ergebnisse mehrerer weiterer Versuche bestätigt werden. Obwohl bei diesen allen am Ende der Reizperiode eine Abnahme der Zuckungshöhe festgestellt wurde, ließ sich eine Erhöhung der Phosphorsäureausscheidung im Gegensatz zum Verhalten des *Semimembranosus* nicht regelmäßig nachweisen.

Es konnte auch hier dargetan werden, daß die nach der unterschwelligem Reizung auftretenden Veränderungen *durchaus reversibel sind*.

#### *Zusammenfassung.*

Wie durch frühere Untersuchungen aus dem hiesigen Institut festgestellt wurde, ist die Ermüdung des Muskels nach der Arbeit außer mit Verminderung der Zuckungshöhe auch mit vermehrter Phosphorsäureausscheidung und beschleunigtem Eintritt der Kalilähmung verbunden.

Das gleiche Verhalten tritt, wie ich früher zeigen konnte, auch nach länger andauernder Durchströmung des Muskels mit relativ starken, nicht zu sichtbarer Kontraktion führenden konstanten Strömen ein.

Aus den eben geschilderten Versuchen geht hervor, daß ganz entsprechende Veränderungen auch bei unterschwelliger, zu keinerlei Kontraktionserscheinungen führender Reizung, mit Einzelinduktionsschlägen auftreten können.

---

## Aus der physiologischen Praxis.

**I. Ranviers Muskelspektrum. — II. Eine Methode der Bestimmung des Glykogens in geringen Mengen von Muskelsubstanz. — III. Ein Speichelversuch am Kaninchen. — IV. Ein Frosehälter ohne Binden. — V. Operative isolierte Durchschneidung des cerebrospinalen und sympathischen Anteiles des Vago-Sympathicus und Hypoglossus beim Frosche.**

Von

Prof. Dr. **R. H. Kahn.**

(Aus dem physiologischen Institute der deutschen Universität in Prag.)

• Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juni 1922.)

### I.

Ein Muskeldauerpräparat zur Demonstration des Muskelspektrums von besonderer Schönheit stellt man nach folgender Methode her. Der Sartorius von *Rana fusca* oder *esculenta* wird ohne Nebenverletzung präpariert. An seiner Fläche etwa haftende Reste des Septum femorale werden mit feiner Schere entfernt. Nun heftet man den Muskel, indem man ihn mit der Dorsalfläche auf eine Korkplatte legt, am proximalen Ende durch zwei, am distalen durch einen Igelstachel an diese an. Die Stacheln werden durch die Muskelsehnen gestochen und dann ganz kurz abgeschnitten. Es ist von Wichtigkeit, daß der Muskel völlig ausgebreitet, ohne Faltenbildung und ohne seitliche Krümmung auf der Korkplatte liegt, indem er gerade zu seiner natürlichen Länge oder eben etwas darüber hinaus gestreckt ist. Auch darf er während der Manipulation nicht eintrocknen, noch ist es zweckmäßig, ihn künstlich zu befeuchten. Nun wird die Korkplatte mit dem Muskel nach abwärts auf die Oberfläche einer in einer Schale befindlichen Lösung von 0,5 g Chloralhydrat, 2 ccm Eisessig und 8 ccm Glycerin in 50 ccm Wasser gelegt. Die Lösung soll nicht ganz frisch verfertigt sein, weil sich sonst leicht kleine Luftblasen auf der Oberfläche des Muskels bilden, welche nur schwer zu entfernen sind. Wie man sieht, handelt es sich hier um eine Flüssigkeit, wie sie in der Histologie seit langem zur Maceration und Quellung der Gewebe verwendet wird. Unmittelbar nach Einbringung in dieselbe vollführt der Muskel (so weit es seine Fixation gestattet) eine Zuckung, sodann wird er

allmählich weißlich und trüb und quillt. Nach etwa 12 Stunden löst man ihn ohne Zerrung und Verletzung von der Korkplatte. Er wird in eine reichliche Menge von Glycerin übertragen. Wenn der Muskel auf den Boden der Schale gesunken ist, wird das Glycerin gewechselt. Jetzt ist der Muskel völlig durchscheinend geworden. Über einen dunklen Grund gehalten und von Sonnenlicht oder guter künstlicher Lichtquelle beleuchtet, zeigt er ein auffallend lebhaftes Farbenspiel. Nun läßt sich auf zweierlei Weise ein Dauerpräparat herstellen. Man hebt den Muskel mit einem Spatel aus dem Glycerin, läßt die Flüssigkeit möglichst abtropfen und legt ihn mit der dorsalen Fläche nach unten auf einen Objektträger. Er wird reichlich mit erwärmter Glycerin-gelatine<sup>1)</sup> bedeckt. Sodann wird ein Deckglas aufgelegt, indem man dasselbe leicht der Oberfläche des Muskels andrückt, und so lange parallel zur Objektträgerenebene festhält, bis die Gelatine fest geworden ist. Luftblasen sind sorgfältig zu vermeiden. Die Gelatineschicht wird auf solche Weise 1—1,5 mm hoch. Man schneidet sie dem Deckglasrande entsprechend mit dem Messer glatt ab, reinigt sorgfältig Objektträger und Deckglas und überzieht die Schnittfläche nebst den anstoßenden Glasflächen mit einer dicken Lösung von Celluloid in Aceton. Der Muskel dunkelt in der Folge etwas nach, das Präparat hält sich unbegrenzt lange.

Um das Muskelspektrum zu betrachten, schneidet man in ein schwarzes steifes Papier einen Spalt von 0,8—1,2 mm Breite, welcher an Länge die Breite des quer über den Spalt gebrückten Muskels etwas übertrifft. Nun blickt man durch den Muskel und den Spalt gegen eine gut beleuchtete, nicht zu kleine weiße Fläche. Dabei ist zwischen Muskel und Spalt eine Entfernung von 10—15 mm einzuhalten. Von der außerordentlichen Schönheit des farbigen Phänomens wird ein jeder überrascht sein. Man erblickt beiderseits neben dem Spalt breite und sehr reine Spektren erster, zweiter und dritter Ordnung. Breite, Reinheit und gegenseitige Entfernung der Spektren hängt nicht nur von der Breite und Entfernung des Spaltes, sondern auch von den im Muskel gelegenen Verhältnissen der Lagerung seiner Elemente ab. Je sorgfältiger man den Muskel den oben erwähnten Punkten entsprechend auf die Korkplatte gelagert hat, desto günstiger sind seine inneren Bedingungen für die Erzeugung des Muskelspektrums. Es kommt hier offenbar neben der parallelen Lagerung der einzelnen Muskelfasern in gestreckter Stellung auch auf eine bestimmte Dehnung derselben an, welche ein Optimum der Breite der einzelnen Querelemente erzeugt. Von dieser hängt dann die für den einzelnen Fall optimale Spaltbreite und Entfernung ab. Diese beiden letzteren sind also für jedes Präparat gesondert auszuprobieren.

<sup>1)</sup> Weigert, C., Encyclopädie der mikr. Technik **1**, 439. 1903.

Eine zweite Art der Herstellung des Dauerpräparates besteht darin, daß man den Muskel aus Glycerin in Canadabalsam überführt. Er wird zunächst für 24 Stunden in 96 proz, sodann für ebenso lange Zeit in absoluten Alkohol übertragen. Dabei wird er wesentlich dünner und schmaler. Durch entsprechende Lagerung (eventuell zwischen Watte) ist dafür zu sorgen, daß er sich nicht über die Kante krümmt. Nun wird der Muskel auf einen Objektträger gelegt, mit einem zweiten, ebenso großen bedeckt und beide Gläser durch Ligaturen derart aneinandergedrückt gehalten, daß die ventrale gewölbte Muskelfläche leicht abgeplattet ist. Auch hier ist darauf zu achten, daß der Muskel sich nicht über die Kante krümmt. Nunmehr wird die ganze Vorrichtung in eine Schale mit Xylol versenkt und unter gelegentlichem Schwenken so lange darin liegen gelassen, bis der Muskel ganz durchsichtig geworden ist. Dann folgt die Entfernung der Glasplatten und die Einbettung in dicken Canadabalsam. Dieses Präparat unterscheidet sich von dem oben erwähnten vor allem dadurch, daß der sehr durchsichtige Muskel über dem Spalt betrachtet nur sehr wenig sichtbar ist. Während man bei Betrachtung des Gelatinepräparates den Sartorius mit den auf ihm liegenden Spektrenreihen erblickt, also einen sehr demonstrativen Anblick des „Muskelspektrums“ hat, erinnert das zweiterwähnte Präparat völlig an ein Glasgitter. Man sieht in großer Klarheit die farbige Erscheinung zunächst ohne auf den Muskel aufmerksam zu werden, und es ist erstaunlich, wie sehr das klare und regelmäßige farbige Bild bei solcher Beobachtung mit der großen Unregelmäßigkeit kontrastiert, mit welcher man bei mikroskopischer Betrachtung des Präparates die Querelemente der verschiedenen Muskelfasern zueinander gelagert sieht.

## II.

Die Methode beruht auf der vielen bekannten Erscheinung, daß ungeformte, schmierige Niederschläge, nachdem sie abzentrifugiert wurden, sehr fest am Boden und der Wand des Zentrifugenglases haften. Ein solcher Niederschlag ist die Fällung des Glykogens mittels Alkohols aus wässriger Lösung. Indem man also bei der Darstellung des Glykogens aus sehr geringen Mengen von Muskelsubstanz das sonst gebräuchliche Filtrieren durch Abzentrifugieren der Glykogenfällung ersetzt, ist man in der Lage, die öfters nötigen Lösungen und Fällungen ohne jeden Substanzverlust vorzunehmen, indem sämtliche Manipulationen vom ersten bis zum letzten Akte in demselben Zentrifugenglase vorgenommen werden. Der ganze Vorgang gestaltet sich folgendermaßen. Ein 30 ccm fassendes Zentrifugenrohr von etwa 10 cm Höhe und 20 mm lichter Weite, an welchem man sich für 11 ccm Inhalt eine ringförmige Marke eingätzt hat, wird in ein entsprechend großes,

mit Wasser gefülltes Becherglas eingesenkt, indem es durch die zentrale Bohrung eines das letztere verschließenden Korkstöpsels hindurchgeschoben wird. (Abb. 1.) Mit der Pipette werden, ohne die Wand des Zentrifugenglases zu benetzen, 2 ccm 60 proz. Natronlauge in dasselbe eingebracht und hierauf das Wasser im Becherglase zum Sieden erhitzt. Der zu untersuchende Muskel im Gewicht von 0,2—0,4 g (die Methode wurde bisher vielfach zur Untersuchung von einzelnen Froschmuskeln benutzt) wird rasch präpariert, von Sehnengewebe befreit, gewogen und in einer kleinen Uhrschale mit feiner Schere zu einem Brei zerkleinert. Ist die Schere gut vernickelt und blank poliert, so bleibt bei einiger Übung keinerlei sichtbare Substanz an ihr hängen. Zum Schlusse wird das Häufchen Muskelbrei auf einen Platinlöffel gebracht, welchen man sich herstellt, indem man einen dünnen Platindraht in das Ende eines Glasstäbchens einschmilzt, sein freies Ende spiralg aufwindet (ca. 1 cm Durchmesser) und die so geschaffene Conchospirale im rechten Winkel zu dem Drahte umbiegt. Mit der geschlossenen Schere wird der Muskelbrei daraufgeschoben. Bei einiger Übung läßt sich die ganze Manipulation sehr rasch durchführen, ohne daß auf der Uhrschale oder Schere der geringste Rest von Muskelsubstanz zurückbleibt. Nun versenkt man die Platinspirale, ohne die Wand des Zentrifugenglases zu berühren, in die Lauge. Der Brei ballt sich zunächst in Klumpen, welche sich unter fortwährendem Rühren mit der Platinschaufel sehr schnell zu einer dunkelbraunen, trüben Flüssigkeit gleichmäßig verteilen. Es bilden sich feine Flockchen und nach etwa 20 Minuten ballt sich eine Wolke schmieriger Substanz, welche aufsteigt und eine bräunliche Oberschicht bildet. Zerrührt, verteilt sie sich leicht, sammelt sich aber immer wieder klumpig an der Oberfläche. Nach 1½ Stunden wird das Zentrifugenglas aus dem Wasserbade genommen, in einen Halter gefaßt und nun spült man die Platinspirale, indem man sie aus der Lauge heraushebt, mit 3 ccm Wasser aus einer Pipette ab, ohne die Wand des Zentrifugenrohres zu benetzen. Wenige Tropfen genügen bereits, um die an dem Drahte haftende bräunliche Schmiere zu lösen. Nach völliger Abspülung hebt man die Spirale aus dem Glase heraus. Der ganze Inhalt desselben hat sich zu einer klaren, hellgelben, ganz schwach opaleszierenden Flüssigkeit gelöst.

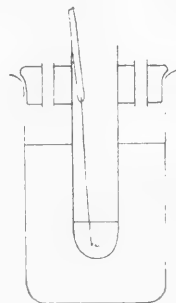


Abb. 1.

Zusatz von 6 ccm 96 proz. Alkohol verursacht sofort eine sehr feine Trübung, welche bald grobflockig wird und sich zu Boden senkt. Nun wird durch eine halbe Stunde scharf (ca. 3000 Touren pro Minute) zentrifugiert. Über einem schmutziggrauen Niederschlage steht eine

klare, gelbliche Flüssigkeit. Dieser Niederschlag sitzt sehr fest auf dem Boden und der Wand des Glases. Man kann dasselbe ausgießen, völlig umdrehen, austropfen lassen, ohne daß das Mindeste von dem Niederschlag verloren geht. Hiervon kann man sich leicht überzeugen, wenn man einige mg Glykogen im Zentrifugenglas, nachdem das Ganze gewogen wurde, in etwas Wasser löst, mit Alkohol fällt, eine halbe Stunde zentrifugiert, den Alkohol abgießt, sorgfältig trocknet und wiederum wägt. Zentrifugiert und getrocknet wird dabei das Glykogen auf dem Boden des Glases vollkommen durchsichtig, so daß man sich von seinem Vorhandensein nur durch die Wage überzeugen kann, sowie dadurch, daß ein wenig Wasser in das Glas gebracht ganz leicht opalisiert.

Der Niederschlag im Zentrifugenglase wird nun in 4 ccm Wasser gelöst, was ohne Erwärmung in kürzester Zeit vor sich geht. Es resultiert eine klare, farblose, leicht opaleszierende Flüssigkeit, in welcher ein Zusatz von 5 ccm Alkohol eine feine weiße Trübung verursacht. Der ganze Vorgang des Zentrifugierens, Lösens und Fällens kann beliebig oft wiederholt werden, es genügt aber, ihn zwei- bis dreimal durchzuführen, um das Glykogen zu reinigen und eine wässrige Lösung desselben zu erhalten, welche bei sorgfältiger Neutralisation mit verdünnter Essigsäure keine Spur von Trübung zeigt. Als Indicator dient am besten ein ganz kleines Stückchen Lackmuspapier, welches man in die Flüssigkeit hineinwirft.

Nach dem letzten Zentrifugieren wird der Niederschlag in 6 ccm Wasser gelöst, mit 0,1 ccm 25proz. Salzsäure versetzt und das Zentrifugenglas neuerlich in das Wasserbad gebracht. Durch  $2\frac{1}{2}$  Stunden wird das Glykogen auf dem siedenden Wasserbade invertiert. Dabei vermindert sich das Volumen der Lösung etwa auf ein Viertel, während die Opalescenz schwindet und der Inhalt des Glases wasserklar wird. Nach Abkühlung wird wiederum neutralisiert und bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt. Mit der Pipette werden 10 ccm der Zuckerlösung entnommen, nach *Bang* titriert und das Glykogen berechnet. Auf solche Weise lassen sich in einzelnen Froschmuskeln genaue Glykogenbestimmungen ausführen. *Zusatz bei der Korrektur:* Ich ersehe nachträglich, daß in der Arbeit von *I. K. Parnas* (Üb. d. Kohlenhydratstoffwechsel d. isol. Amphibienmuskeln, *Biochem. Zeitschr.* **116**, 71 [75]. 1921) eine von *I. v. Przylecki* ausgearbeitete Methode der Bestimmung von Glykogen in kleinen Muskelmengen kurz mitgeteilt und verwendet ist, welche sich ebenfalls der Zentrifuge bedient.

### III.

Bekanntlich bewirkt das Pilocarpin rege Speichelsekretion. Aber es dürfte wenig bekannt sein, in wie außerordentlichem Maße die Speichelsekretion beim Kaninchen durch eine Instillation dieses Giftes in

den Conjunctivalsack gefördert wird. Diese Tatsache läßt sich zu einem sehr anschaulichen Demonstrationsversuche ausgestalten. Das Tier wird auf dem Kaninchenbrette mit dem Bauche nach abwärts gefesselt und der Kopf in möglichst natürlicher Stellung durch einen Kopfhalter (am besten mit Ring und Nackengabel) fixiert, so daß die Ebene der Mundspalte eine Neigung nach vorne und unten erhält. Unter die Mundöffnung wird ein Becherglas gestellt und hierauf ein bis zwei Tropfen einer 2proz. Pilocarpinlösung in den Bindehautsack eines Auges instilliert. Bereits nach 5 Minuten beginnt eine rege Speichelsekretion, welche in kurzer Zeit so hochgradig wird, daß aus dem vorderen Ende der Mundspalte ein Speichelstrom in das vorgelegte Becherglas läuft. Der Speichel erscheint zuerst als Tropfen an der Spitze der Unterlippe, tropft durch einige Minuten mit zunehmender Geschwindigkeit ab, bis sich schließlich ein dicker Speichelfaden, ohne abzureißen, aus dem Maule ergießt. Diese profuse Sekretion dauert etwa 30 Minuten an, wobei sich in die Vorlage bis zu 20 ccm leicht trüben, fadenziehenden Speichels entleeren. 30 bis 45 Minuten nach der Instillation klingt das Phänomen langsam ab, indem wieder einzelne Tropfen fallen, bis die Übersekretion ganz versiegt. Eine Probe des ausfließenden, noch warmen Speichels, in ein Reagensglas mit etwas Stärkekleister gebracht, hat sehr starke saccharifizierende Wirkung. Ohne weitere Erwärmung läßt sich nach kurzer Zeit die hochgradige Verzuckerung der Stärke zeigen. Die Wege, auf denen das instillierte Pilocarpin zur Wirkung gelangt, sowie sonstige, vermutliche Wirkungen instillierten Pilocarpins werden gesondert zu untersuchen sein. Äußerlich ist an dem Tiere, abgesehen von der Miosis und einiger Unruhe der Nasenflügel, nichts zu bemerken.

#### IV.

Im folgenden sei ein Froschbrett beschrieben, welches sich mir zur Injektion von Flüssigkeit in die Vena brachialis, zur isolierten Reizung der ungesesselten vorderen Extremitäten, sowie überhaupt zur raschen vorübergehenden Immobilisierung des auf dem Rücken liegenden Frosches seit 20 Jahren außerordentlich bewährt hat.

Abb. 2 zeigt eine schematische Skizze desselben. Das Tier wird mit der linken Hand erfaßt, mit dem Rücken nach abwärts auf das Brett gelegt, so daß die beiden stumpfen Haken ( $h$   $h_1$ ) mit ihren rechtwinklig umgebogenen Enden jederseits ventral von der Scapula zu liegen kommen. Das Tier ist also, indem die Haken die Haut unter die Scapulae einstülpen, gleichsam an diesen Knochen aufgehängt. Indem man nun die Hinterbeine anzieht und gleichzeitig durch Lösen der Schraube  $S$  den Hakenträger  $H$  verschiebt, orientiert man leicht die Hinterbeine zu den am Fußende des Brettes eingeschlagenen Stiftpaaren derart,

daß man dieselben durch extreme Beugung in den Fußgelenken an den Stiften befestigen kann. Die rechts unten in der Abbildung sichtbare Skizze zeigt ohne weitere Erklärungsnotwendigkeit die Lage des Unterschenkels und Fußes. Zum Schlusse wird der Hakenträger leicht kopfwärts gezogen und mit der Schraube *S* festgeklemmt. Die ganze

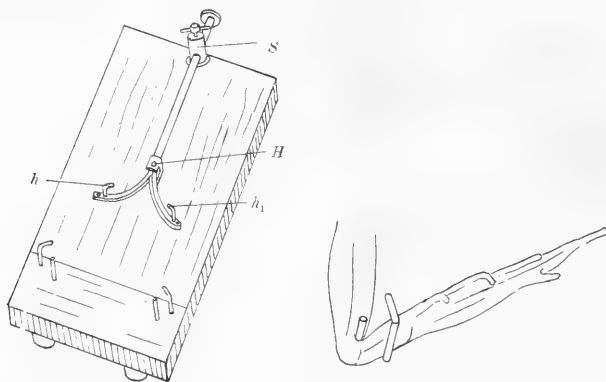


Abb. 2.

Manipulation ist in einigen Sekunden erledigt und das Tier ist in schonender Weise unbeweglich fixiert. Die vorderen Extremitäten sind völlig frei. Es sei noch erwähnt, daß die beiden Arme des Hakenträgers in einem Gelenke gegeneinander drehbar und daß die Dimensionen der ganzen Vorrichtung so bemessen sind, daß Tiere jeder Größe fixiert werden können. Ein bindenloser Froschhalter, auf welchem das Tier auf dem Bauche liegt, soll bei späterer Gelegenheit beschrieben werden.

## V.

Die Untersuchung des Zustandes einer Reihe von Organen des Frosches nach Ausschaltung ihrer cerebrospinalen bzw. sympathischen Innervation erfordert besondere Operationsmethoden, von denen hier jene, welche sich auf das Herz und gewisse Organe des Kopfes bezieht, geschildert werden soll. Die Ausführbarkeit dieser Operation beruht vor allem auf der besonderen Stellung, in welche das Tier zur besseren Zugänglichkeit der Austrittsstellen des Glossopharyngeus, Vagus und Hypoglossus gebracht werden muß. Es wird nämlich der Kopf exzessiv gebeugt, so daß die Gewebe, welche das Hinterhaupt mit dem Rücken und der Schulter verbinden, stark gespannt sind und nach ihrer Durchtrennung weite Lücken klaffen.

Eine nicht zu kleine *Rana esculenta* wird mit Äther unter der Glasglocke tief narkotisiert, an den Hinterbeinen vertikal gehalten und in dieser Stellung derart in eine Klemme gefaßt, daß deren Branchen den vorderen Teil des Oberkopfes bis gegen die Augen bzw. den Mund-



höhlenboden zwischen sich fassen und die Mundspalte annähernd vertikal steht. Hierzu eignet sich ganz gut ein in allen Laboratorien vorhandener starker Muskelhalter zur Befestigung des Femurstumpfes des Nervmuskelpreparates vom Frosche. Er wird derart auf den Tisch gelegt, daß die Stange, an welcher die Klemme befestigt ist, senkrecht in die Höhe ragt. Zur Schonung der Haut wird zwischen Klemmenarme und Kopf ein weicher Tuchlappen gelegt. Nun läßt man bei so fixiertem Kopfe den Leib des Tieres herabsinken, so daß durch sein Gewicht der Kopf stark gebeugt, die Nackengegend also stark gespannt wird. Die Klemme darf scharf zugezogen werden. Die dabei etwa entstehenden Druckmarken schwinden nach Abnahme des Tieres in ganz kurzer Zeit.

Die eigentümliche Stellung des Tieres zeigt Abb. 3. Das Operationsgebiet befindet sich auf der Höhe der vom Nacken gebildeten Kuppe.

Durch einen T-förmigen Schnitt wird der dorsale Lymphsack eröffnet, indem man die Haut in der Sagittalebene hinter den Augen beginnend bis hinter die Verbindungslinie der Armsätze durchschneidet und mit der Schere senkrecht auf diesen Schnitt gegen die Gegend hinter dem Trommelfelle einen Querschnitt setzt. Hierbei ist eine Verletzung des daselbst in Begleitung des *R. auricularis* des Vagus zur Haut verlaufenden *Ram. dorsalis* der *Art. cutanea magna* sorgfältig zu vermeiden. Die Hautlappen werden durch Klemmen auseinandergelassen und die *Fascia dorsalis* neben der Wirbelsäule der Länge nach stumpf durchtrennt. Mit feinem FINDER wird der *Musc. rhomboideus anterior*, sowie der *Musc. levator scapulae sup.* durchrissen, so daß die *Suprascapula* gehoben werden kann. Von ihrem medialen Knorpelrande wird mit der Schere ein Streifen von etwa 1—2 mm Breite abgetragen. Nunmehr geht man mit dem FINDER unter die vorderste Partie des *Musc. longissimus dorsi* von seinem lateralen Rande her und durchreißt ihn da, wo er sehnig wird, unter sorgfältiger Schonung der zwischen seinen beiden Portionen hindurchtretenden, stets sehr gut sichtbaren *Art. occipitalis*. Der vor der Durchreißung stark gespannte Muskel klafft sogleich mit breiter, querer Lücke, auf deren Grunde der *Musc. intertransversarius capitis superior* erscheint. Die Durchreißung dieses Muskels wird ebenso bewerkstelligt, wie die des vorher genannten, jedoch empfiehlt es sich, seine einzelnen Faserbündel



Abb. 3.

gesondert und die medial gelegenen mit besonderer Vorsicht zu durchtrennen, da knapp ventral von seinem medialen Rande die Arteria occipitalis verläuft, deren Verletzung eine unstillbare Blutung, welche jedes weitere Operieren vereitelt, zur Folge hat. Auch dieser Muskel klafft stark nach seiner Durchreißung und es öffnet sich unter ihm ein rechteckiger Raum, welcher vom Hinterhaupte, der Wirbelsäule, dem langen Querfortsatze des zweiten Wirbels und lateral von der Suprascapula begrenzt ist. In seiner medialen vorderen Ecke sieht man in einen pigmentzellenführenden Mantel gehüllt, das gelbliche Gangl. jugulare Vagi, seine vordere Schmalseite entlang zieht das Nervenbündel des Glossopharyngeus-Vagus mit deren Ästen. Den Boden dieses Raumes bildet der *Musc. intertransversarius capitis inferior*, seine hintere Schmalseite der Querfortsatz des zweiten Wirbels, an welchen sich dieser Muskel breit ansetzt. Die mediale Wand schimmert weiß und sehnig. Sie wird zum Teil durch die Seitenfläche des Atlas, zum Teil durch den *Condylus occipitalis* des Hinterhauptbeines und deren Bänderüberzug gebildet. An ihrem oberen Rande erblickt man, aus der Tiefe zwischen Atlas und medialem Rande des *M. intertransvers. cap. inf.* auftauchend, die pulsierende *Art. occipito-vertebralis*, welche

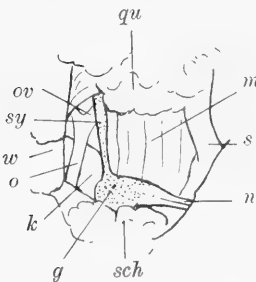


Abb. 4. Skizze des Operationsgebietes nach Durchtrennung des *Musc. intertransversarius cap. superior* auf der linken Seite. Vergrößert. — *w* = Wirbelsäule, *sch* = Schädel, *s* = Suprascapula, *qu* = Querfortsatz des II. Wirbels, *m* = *Musc. intertransv. cap. inf.*, *k* = Kapsel der Atlanto-Occipitalverbindung, *ov* = *Art. occip.-vertebr.*, *o* = *Art. occipitalis* des II. Wirbels, *n* = *Nn. vag. u. glossophar.*, *sy* = *Sympath. Verbindungs-nerv* zwischen *Gangl. symp. II.* und *Gangl. jug. vagi*.

sich eben in die oralwärts laufende *Art. occipitalis* und in die caudalwärts ziehende *Art. vertebralis dorsi* teilt. Am unteren Rande verläuft der oberste Teil der *Pars cervico-brachialis* des *Sympathicus*, nämlich der Verbindungsast zwischen dem zweiten sympathischen Ganglion (am Hypoglossus) und dem *Gangl. jugulare Vagi*. Er hat ein schwarzgraues Aussehen, da er gleich diesem Ganglion von pigmentzellenführendem Bindegewebe eingehüllt ist.

Nach *Gaupp*<sup>1)</sup> besteht diese *Pars cephalica* des *Sympathicus* aus zwei nebeneinander verlaufenden Nerven, von denen der eine dem zweiten sympathischen Ganglion entstammend am *Gangl. jugulare vagi* vorbei durch das *Foramen jugulare* zum *Ggl. prooticum commune* ziehen soll, während der andere ebenfalls aus dem sympathischen Hypoglossusganglion stammend sich in das *Gangl. jugulare* einsetzt. Diese Angaben beruhen offenbar auf einem Irrtum. Bei keiner der sehr zahlreich

<sup>1)</sup> *Gaupp, E.*, Anatomie des Frosches. III. Nervensystem, S. 217. Siehe auch Abb. 40 und 62.

durchgeführten Operationen habe ich jemals eine Verdoppelung dieses obersten Abschnittes des sympathischen Grenzstranges gesehen. Auch an der Leiche läßt sich immer nur ein Verbindungsnerf feststellen, welcher vom zweiten sympathischen Ganglion zum Ganglion jugulare vagi hinzieht. Ein anschauliches Demonstrationsobjekt der anatomisch vorliegenden Verhältnisse stellt man her, indem man nach anatomischer Präparation dieser Gegend den Hypoglossus bei seinem Austritte, den Grenzstrang zwischen zweitem und drittem Ganglion und Glossopharyngeus-Vagus unterhalb des Gangl. jugulare durchschneidet, diese Nerven mit einem feinen Tuche leicht umhüllt und das Ganze aus dem foramen jugulare mit kurzem Rucke herausreißt. Das Nervenpräparat wird dann auf einem Blatte schwarzen Papiers vorsichtig ausgebreitet und in halber Eintrocknung in Alkohol fixiert.

Abb. 5 zeigt ein solches Präparat in doppelter Vergrößerung. Rechts ist die Kreuzungsstelle des Hypoglossus (Austrittsstelle oben abgeschnitten) mit dem Grenzstrange zu sehen, links neben ersterem das zweite sympathische Ganglion, welches in den Verbindungsast zum Gangl. jugulare vagi übergeht. Dieses selbst in der Figur links, nach unten abgehend der Vagus mit seinem Ram. auricularis und der Glossopharyngeus aus einem besonderen links unter dem Jugularganglion liegenden kleinen Austrittsganglion entspringend. Nach links oben ziehen die aus dem Foramen jugulare ausgerissenen Glossopharyngeus Vaguswurzeln als ein dicker, die sympathische Verbindung zwischen Jugularganglion und Gangl. prooticum commune in der Schädelhöhle als ein feiner Nervenstrang nebeneinander. Es liegen also die Verhältnisse für den obersten Teil des Grenzstranges so, daß vom zweiten sympathischen Ganglion ein einziger Verbindungsast die sympathischen Fasern dem Gangl. jugulare zuführt, welches sie dem Vagus Glossopharyngeus und dem Ganglion prooticum commune zuteilt. Es hat den Anschein, daß ganz feine, kaum präparierbare Nervenfasern sympathischen Ursprunges gegen die Gefäße dieser Gegend hinziehen; von *Gaupp* sind solche für die Art. occipitalis ausdrücklich angegeben worden.



Abb. 5.

Das bisher geschilderte Operationsverfahren ermöglicht die gesonderte Durchschneidung der sympathischen und autonomen (parasympathischen) Innervationsbahnen des Herzens. Mit einem feinen Häkchen hebt man den Sympathicus da, wo er an der lateralen Wand des Atlas verläuft, von der Unterlage ab und schneidet ihn mit feiner Schere durch. Bekanntlich führt dieser Nerv die sympathischen för-

dernden Herznervenfasern dem Gangl. jug. vagi zu. Um die Durchschneidung des Vagus vor seinem Eintritt in das Gangl. jug. also ohne Verletzung der sympathischen Herznervenfasern vorzunehmen, bedarf man eines eigenen Instrumentes. Aus einer mittelstarken Nähnadel, welche in einen Nadelhalter gefaßt ist, schleift man sich auf dem Schmirgelstein ein Messer mit möglichst starkem Rücken und zieht dieses sehr fein auf Ölstein und Streichriemen ab. Mit diesem Messerchen wird, indem man das ganze Nervenbündel unterhalb des Gangl. jugulare mit einem feinen Häkchen leicht caudalwärts zieht, das Ganglion jugulare vom Hinterhaupte abgeschnitten. Dabei führt man das Messer am besten von außen nach innen hart am Knochen. Weder das Ganglion noch der Sympathicus werden dabei verletzt. Durch diesen Schnitt werden die herzhemmenden Nervenfasern durchtrennt. Die ganze Operation, bei welcher bei genügender Erfahrung und Geschicklichkeit kein Tropfen Blut zu fließen braucht, läßt sich nun einfach beenden, indem man das Tier aus dem Halter herausnimmt und auf den Tisch legt. Dadurch wird die Nackengegend entspannt. Die durchrissenen Muskeln werden, soweit es nötig erscheint, genäht, einige stärkere Nähte vereinigen den knorpeligen Teil der Supra scapula mit der Fascia dorsalis. Die Hautschnittländer werden durch Knopfnähte vereinigt.

Um am Hypoglossus zu durchschneiden, führt man die Operation nach Durchreißung des *M. intertransversarius cap. superior* derart weiter, daß man auch den Boden des oben beschriebenen Operationsraumes, den *M. intertransv. cap. inferior* von außen und seiner Ventralfläche her durchreißt, wiederum unter sorgfältiger Schonung der an seinem medialen Rande verlaufenden großen Gefäße. Die Reste dieser beiden Muskeln werden hart am oralen Rande des Querfortsatzes des zweiten Halswirbels mit der Schere abgetragen und nunmehr auch der *M. intertransversarius* zwischen zweitem und drittem Wirbel durchrissen. Mit den Spitzen einer feinen Knochenzange wird der Querfortsatz des zweiten Wirbels von der Dorsalseite her an seinem Grunde abgeschnitten. Dabei ist darauf zu achten, daß der Hypoglossus der Ventralfläche dieses Fortsatzes unmittelbar anliegt. Der Knochen wird mit einem Häkchen zur Seite gezogen. Es erscheint das zweite sympathische Ganglion, der Hypoglossus an seiner Austrittsstelle, seine Kreuzung mit dem Grenzstrange (der Hypoglossus liegt dorsal) und ein weiteres Stück des Grenzstranges. Nun läßt sich leicht der Hypoglossus oberhalb der Kreuzung mit der feinen Schere durchschneiden, so daß sein peripherer Stamm nur noch intakte sympathische Nervenfasern enthält. Desgleichen gelingt leicht die Ausrottung des zweiten Sympathicusganglions unter vorsichtiger Schonung der *Art. occipitalis*. Die Durchschneidung des Grenzstranges zentral von der Kreuzung aber ist schwierig, da an dieser Stelle die *Art. occipito-*

vertebralis mit dem Nerven durch Bindegewebe verlötet ist. Es bedarf einer schonenden und nicht immer ohne Gefäßverletzung gelingenden Präparation, um ihn genügend zu isolieren. Nach Ausrottung des Ganglions und der eben erwähnten Durchschneidung sind die im Hypoglossus verlaufenden sympathischen Innervationsbahnen durchtrennt. Der abgeschnittene Querfortsatz wird entfernt oder an seinen Muskelresten mit der Fascia dorsalis vernäht, und die Operation, wie oben beschrieben, vollendet. Natürlich ist es leicht möglich, mit dem beschriebenen Verfahren gesondert den Glossopharyngeus zu durchschneiden, die genannten Gefäße zu unterbinden und die Details der Nervendurchschneidungen noch anders zu kombinieren, als es eben beschrieben wurde.

Von Versuchsergebnissen, welche mit dieser Operation gewonnen wurden, wird bei anderer Gelegenheit die Rede sein. Hier soll nur noch zweier Symptome gedacht werden, welche im Gefolge der isolierten Sympathicus- bzw. Vagusdurchschneidung zu beobachten sind. Die Durchschneidung des obersten Teiles des Grenzstranges führt zur Verengung der Pupille des gleichseitigen Auges. Dieser Erscheinung wurde schon früher von mir<sup>1)</sup> bei ähnlicher Gelegenheit gedacht. Merkwürdigerweise scheint die Abtrennung des Ganglion jugulare von der Schädelbasis, wobei doch alle durch das Foramen jugulare tretenden Gebilde durchschnitten werden, nicht regelmäßig das gleiche Resultat zur Folge zu haben. Wie ich schon seinerzeit bemerkt habe, bedarf die Frage der sympathischen Innervationswege der Frosechiris einer neuerlichen Bearbeitung, zumal ja auch sonst gewisse Verschiedenheiten im Verhalten der Pupille nach Sympathicusdurchschneidung und Ganglienextirpation bekannt sind.

Die beiderseitige Durchschneidung des Vagus oberhalb des Ganglions hat nun weiter noch ein grob wahrnehmbares charakteristisches Symptom zur Folge. Nach einer Reihe von Tagen bemerkt man als fast regelmäßiges Ergebnis der Operation im Maule des Tieres einen großen, mit Schleimhaut überzogenen, nach der rechten Seite gekrümmten, wurstförmigen Körper. Die Autopsie ergibt, daß es sich um eine Invagination des Magens in den Oesophagus mit Inversion und Prolaps desselben in die Mundhöhle handelt. Diese Erscheinung ist offenbar so zu erklären, daß die bei so hoher Vagusdurchschneidung eintretende Lähmung des Pharynx die Disposition für den Prolaps schafft. Die Ursache für denselben liegt vermutlich in der Wirkung der Bauchpresse bei gelähmtem Oesophagus<sup>2)</sup>.

Die Details der Operation, sowie die charakteristische Pupillenveränderung und der Oesophagusprolaps wurden in der Sitzung der biologischen Sektion des deutschen naturw.-medizin. Vereines „Lotos“ in Prag am 20. I. 1920 demonstriert.

<sup>1)</sup> *Kahn, R. H.*, Beiträge zur Lehre vom Muskeltonus II. *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **192**, 110. 1921.

<sup>2)</sup> Zwei Fälle von spontaner Invagination des Magens bei Anuren beschrieb *E. Michl* in *Arch. f. Anat. u. Physiol. (Anat. Abt.)* 1914, S. 313.

# Untersuchungen am intakten Kreislauf verschiedener Organe beim Frosch.

Von  
Ernst Wertheimer.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Halle a. S.)

(Eingegangen am 3. Juli 1922).

Läßt man auf einen curarisierten oder narkotisierten Frosch durch eine stärkere Lichtquelle, — wir benutzten eine Nernstlampe — Licht auffallen, so gelingt es leicht, den Kreislauf in den verschiedensten Organen zu beobachten. Die Beobachtungen des Kreislaufes im auffallenden Licht, namentlich an den Hautcapillaren des Menschen, wurden besonders durch die Untersuchungen in der medizinischen Klinik in Tübingen gefördert<sup>1)</sup>. *Basler*<sup>2)</sup> gibt eine sinnreiche Methode der Untersuchung im durchfallenden Licht an mit Hilfe eines Lichtleiters, der einfach aus einem Glasstab besteht. Für unsere Beobachtungen erwies sich die Untersuchung im auffallenden Licht am praktischsten. Die Erwärmung des Objekts, mit der hierbei gerechnet werden muß, kann herabgesetzt werden durch möglichste Entfernung der Nernstlampe und durch Berieselung des Organes. Der Temperatureinfluß kann dadurch so gut wie ausgeschaltet werden, wie Kontrollversuche mit der *Baslerschen* Methode ergaben. Wir haben den Kreislauf folgender Organe mit Hilfe dieser einfachen Anordnung untersuchen können: Muskel, Lunge, Darm, Niere und Nebenniere, Herz, Milz, Hoden, Haut.

Die Beobachtung am Muskel gestaltet sich nicht so einfach. Meist findet man auf der Beugseite des Ober- und Unterschenkels die schönsten Stellen. Man suche eine solche mit möglichst viel Capillaren, beriesele dann zunächst mehrmals mit Ringerlösung von Zimmertemperatur, dann mit der zu untersuchenden Flüssigkeit. Beim Muskel hat man genau zu achten, auf die Weite der Gefäße, namentlich der kleinsten, ferner auf die Zahl der Capillaren; dann mache man sich eine Vorstellung von der Geschwindigkeit des Blutstromes, endlich verschaffe man sich

---

<sup>1)</sup> *E. Weiss*, Beobachtung und mikrophotographische Darstellung der Hautcapillaren am lebenden Menschen. Habilitationsschrift Tübingen. Bei F. C. W. Vogel, Leipzig 1916 (mit einschlägiger Literatur).

<sup>2)</sup> Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **167**, 228. 1917.

ein Bild von dem Capillarkreislauf des ganzen Gesichtsfeldes durch Verschieben der Mikrometerschraube. Namentlich beim Muskel ist eine genaue Beobachtung der angeführten Stellen notwendig.

Aus Vorstellungen heraus, die sich im Laufe der Untersuchungen gebildet haben, haben wir verschiedenartige Stoffe auf die Muskelgefäße einwirken lassen. Die einzelnen Protokolle anzugeben würde zu weit führen. Wir beschränken uns auf Zusammenfassungen. Mit *Adrenalin* 1/10 000—1/40 000 bekamen wir eine langsam sich einstellende, deutlich Wirkung. Die Capillaren verengern sich, der Kreislauf steht schließlich still. Die Adrenalinwirkung ist beim Muskel lange nicht so prompt wie z. B. beim Darm. Mit *Atropin* konnten wir eine solche Wirkung nicht erzielen. Wir versuchten nun den entgegengesetzten Einfluß zu erreichen. *Cholin*, *Acetylcholin* und *Pilocarpin* zeigten keine Wirkung. Von einem anderen Gesichtspunkte versuchten wir, ob wir durch Stoffwechselprodukte Gefäßerweiterung bekommen könnten.

Wir begannen mit *Milchsäure* in Verdünnungen von 1/2000—1/10 000 Die Wirkung war nicht zu verkennen. In allen Fällen ist eine deutliche meist sehr auffallende Beschleunigung des Kreislaufes wahrzunehmen. Bei den erwähnten Konzentrationen tritt weiterhin allmählich eine Erweiterung der kleinen und besonders der kleinsten Gefäße ein. Es werden Capillaren im Kreislauf sichtbar, die vorher nicht zu sehen waren. Manchmal erweitern sich diese Capillaren derart, daß eine Verlangsamung der Strömung eintritt. Zu hohe Konzentrationen wirken zunächst verengend und dann tritt die Erweiterung und Beschleunigung ein. Die Wirkung klingt allmählich ab. Oft ist die Wirkung am besten zu sehen, wenn man nach Aufträufeln der Milchsäure einige Minuten wartet und dann beobachtet. Übrigens sieht man schon makroskopisch, wenn man einen mit Milchsäure behandelten Muskel der einen Seite, mit dem (mit Ringer gespülten) der anderen Seite vergleicht, eine deutliche Hyperämie des Säuremuskels. Der weitere Weg war nun klar vorgezeichnet. Wir untersuchten zunächst die *Phosphorsäure*. Die Wirkung war mindestens so stark wie bei der Milchsäure in entsprechenden Verdünnungen. Mit *Kohlensäure*, *Essigsäure*, wie auch mit *Salzsäure* war die Wirkung schwächer, unsicherer und weniger nachhaltig. Jedenfalls sei schon hier darauf hingewiesen, daß *Stoffwechselprodukte des Muskels, wie Milchsäure und Phosphorsäure, den Muskelkreislauf im Sinne einer Förderung beeinflussen*. Andererseits wissen wir schon lange, daß im willkürlich, ebenso wie im unwillkürlich kontrahierten Muskel sich die Gefäße erweitern.

*Alkalien* verlangsamten im Gegensatz den Kreislauf im Muskel, verengerten die Gefäße, brachten Capillaren im Gesichtsfeld zum Verschwinden, ja konnten den ganzen Capillarkreislauf zum Ver-

schwinden bringen. Wir prüften mit 1/100 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösungen und schwächeren Konzentrationen. Die Alkaliwirkungen waren bei den angewandten Verdünnungen reversibel und konnten durch Säuren glatt beseitigt werden. — Endlich sei noch erwähnt, daß es gelang die Adrenalinwirkung durch Säuren (Milchsäure usw.) abzuschwächen.

Als wesentliches Ergebnis der Untersuchungen am Muskelkreislauf können wir feststellen, daß *es gelingt durch geringe Mengen von Milchsäure und Phosphorsäure die kleinen und kleinsten Gefäße zu erweitern und den Kreislauf zu beschleunigen*. Die Wirkung ist ziemlich nachhaltig. Mit Essigsäure und namentlich mit Salzsäure war die Wirkung nicht so ausgeprägt und, wenn vorhanden, nur von kurzer Dauer. Mit Natriumcarbonat läßt sich am Muskel eine Gefäßverengung bis zum Stillstand des Blutkreislaufes hervorrufen. Adrenalin hat eine deutliche Wirkung auf die Muskelcapillaren.

Außerordentlich schöne Bilder liefert der *Lungenkreislauf* des Frosches. Voraussetzung ist nur, daß die Lunge gebläht ist. Oft findet man schon beim nicht besonders vorbehandelten, nur curarisierten Frosch eine solche vor, häufiger wird sie beim narkotisierten Tier gefunden. Künstlich läßt sie sich fast regelmäßig erzeugen durch Injektion von 1 cm 1/200 n KCN-Lösung. Vergleichsuntersuchungen hatten erwiesen, daß diese Menge Blausäure den Lungenkreislauf primär nicht schädigt.

Einwenden könnte man aber, daß durch die Lungenblähung der Kreislauf schon verändert wird. Wir hatten im Laufe der Untersuchungen Gelegenheit, den Kreislauf bei verschiedenstem Dehnungsgrad, auch bei der nicht gedehnten Lunge, zu untersuchen. Die Verhältnisse blieben dieselben, nur der Maßstab war verändert. Schließlich machen wir bei der geläufigen Untersuchung des Kreislaufes der Schwimmhaut genau dasselbe, wenn wir diese ausspannen. Das gewöhnliche Bild des Lungenkreislaufes ist sehr instruktiv. Die Verteilung des Blutes auf eine Riesenoberfläche wird sehr gut veranschaulicht. Uns interessierte wieder die Frage, durch welche Stoffe der Lungenkreislauf beeinflußt werden konnte. Es lag nahe, zuerst das *Adrenalin* zu untersuchen. Aus allen Untersuchungen hat sich ergeben, daß Adrenalin in den üblichen Dosen (1/40 000—1/10 000) den Lungenkreislauf unverändert läßt. Ebenso wenig übten Atropin, auf der anderen Seite *Pilocarpin* und *Cholin* eine Wirkung aus. Vergleicht man die Adrenalinwirkung auf die Lungengefäße und die Wirkung der gleichen Lösung auf die Leber oder den Darm, die man kurz hintereinander verfolgen kann, so ist der Unterschied dermaßen auffällig, daß gar keine Zweifel bestehen können. Bis jetzt hat man die Beeinflussung der Lungengefäße fast ausschließlich an isolierten, überlebenden Gefäßstreifen studiert und daraus weitgehende Schlüsse, z. B. über die



Innervation der betr. Gefäße gezogen<sup>1)</sup>. Ob die Versuche an Gefäßringen von Warmblütern, die oft stundenlang in eisgekühlter *Ringerscher* Flüssigkeit liegen, genau die Verhältnisse wiederspiegeln, wie sie am lebenden Tier herrschen, können wir nicht entscheiden. Vorsicht ist auch geboten bei der Verwertung der Resultate am künstlich durchströmten Organ. *Cushny* und *Gunn*<sup>2)</sup> fanden, daß, wenn man das isolierte Kaninchenherz mit Ringer durchströmt, die Coronargefäße durch das eigene Plasma bzw. Serum abnorm verengt werden. Wir müssen bei der Durchströmung der Gefäße von isolierten Warmblüterorganen immer mit solchen Umstimmungen und abnorm gewordenen Reaktionen rechnen und können die Befunde nicht ohne weiteres auf das lebende Tier übertragen. Dasselbe gilt auch für das Läden-Trendelenburgsche Präparat<sup>3)</sup>; ganz besonders aber für den isolierten Gefäßstreifen. Wie sehr Vorsicht geboten ist, das zeigen die Versuche an überlebenden Lungengefäßen. *O. B. Meyer*<sup>4)</sup> und *Langendorff*<sup>5)</sup> fanden, daß Pulmonalarterien der verschiedensten Säugetiere durch Adrenalin verengt werden. *Cow*<sup>6)</sup> hingegen konnte in einer sehr eingehenden Darlegung zeigen, daß extraviscerale Lungenarterien eine mäßige Kontraktion auf Adrenalin gaben, intraviscerale jede Reaktion vermissen ließen. Auch durch andere sehr stark constrictorisch wirkende Stoffe wie *Ergotin*, *Tyramin*, *Isoamylamin* waren nur diese Gefäße nicht zu beeinflussen. Über die Beeinflussung des Capillarkreislaufes kann diese Methode natürlich gar nichts aussagen.

Ferner wurde die Adrenalinwirkung auf den Lungenkreislauf durch Druckmessungen<sup>7)</sup> studiert. Obwohl sich auch gegen diese Methode Einwände machen lassen<sup>8)</sup>, ist sie doch geeigneter, um sichere Schlüsse zu ziehen, als die vorhergenannte. Das Resultat war, daß der Druck im kleinen Kreislauf auf Adrenalinzufuhr unverändert blieb, was mit unseren Beobachtungen am intakten Kreislauf übereinstimmt. Plethysmographische Messungen sind schwer durchzuführen, die Resultate sind oft nicht eindeutig<sup>9)</sup>. Nachdem sich der Lungenkreislauf am lebenden Kaltblüter durch die stärksten Gefäßmittel als unbeeinflussbar erwiesen hatte, versuchten wir die CO<sub>2</sub>-Wirkung festzustellen.

<sup>1)</sup> *Langendorff*, Zentralbl. f. Physiol. **21**, 551. 1908.

<sup>2)</sup> The Journ. of Pharm. and exp. Ther. Vol. V, Nr. 1. 1913.

<sup>3)</sup> Siehe auch *R. J. Hamburger*, Biochem. Zeitschr. **129**, 153. 1922.

<sup>4)</sup> *O. B. Meyer*, Zeitschr. f. Biol. **30**, 352. 1907.

<sup>5)</sup> l. c.

<sup>6)</sup> The Journ. of Physiol. **42**, 125. 1913.

<sup>7)</sup> *Velich*, Wien. med. Wochenschr. 1898, S. 1257; *Gerhard*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **44**, 161. 1900.

<sup>8)</sup> *Tigerstedt*, Ergebn. d. Physiol. **2**, II, 528. 1903.

<sup>9)</sup> *Cloetta* und *Anders*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. **76**, 125. 1914; daselbst die Diskussion mit *E. Weber* **77**, 251. 1914.

Wir ließen übersättigte  $\text{CO}_2$ -Lösungen auf die Lunge einwirken und wir hatten einen deutlichen Erfolg. Der Kreislauf erfuhr eine starke Beschleunigung, allmählich erweiterten sich die kleinen und großen Arterien und buchteten sich oft deutlich vor. Die Wirkung war am bereits verlangsamten, geschädigten Kreislauf, der sonst nicht zu beeinflussen war, oft besonders deutlich. Analoge Wirkungen haben wir durch *Milchsäure* bis 1/10 000 nicht erzielen können, auch nicht mit den übrigen gebrauchten Säuren. Andererseits erzielten wir mit *alkalischen* Lösungen ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1/1000) deutliche Verlangsamung des Kreislaufes und Verengerung der Gefäße bis zum Stillstand. *Coffein* und *Digitalispräparate*, *Alkohol* und *Äther*, ferner *K*, *Ca* und *Ba* waren ohne jeden deutlichen Einfluß auf die Lungengefäße.

Der Lungenkreislauf erwies sich im hohem Grade unabhängig von den gewöhnlichen Gefäßmitteln. *Adrenalin* hat keinen Einfluß, *Kohlensäure* hingegen beschleunigt den Kreislauf in der Lunge, erweitert die Gefäße, schwach alkalische Lösungen bewirken das Gegenteil.

Die *Bulbusgefäße* am Herzen sind schwieriger zu beobachten. Man findet zwar unschwer Stellen, die ein übersichtliches Bild geben, aber die Beurteilung von Wirkungen ist sehr schwer. Daß *Adrenalin* keine constrictorische Wirkung an den Gefäßen des Herzens ausübt, ist für das Säugetier bekannt<sup>1)</sup> und kann auch am intakten Kreislauf des Kaltblüters leicht gezeigt werden. Eine Erweiterung durch Adrenalin konnten wir nicht beobachten. Wir hatten den bestimmten Eindruck, daß die erhöhte Herztätigkeit das primäre ist, auf die sekundär eine stärkere Durchblutung folgen kann. *Cholin* war unwirksam, ebenso *Pilocarpin*; mit *Säuren* und *Alkalien* verschiedener Konzentrationen (wie beim quergestreiften Muskel) erzielten wir keine Wirkung auch nicht mit *Ca* und *Ba*. Durch zahlreiche Beobachtungen wird man zu der Annahme geführt, daß die Weite der Bulbusgefäße des Herzens beim Kaltblüter lediglich von der Aktion des Herzens beeinflusst ist. Ob bei der Herztätigkeit erst Stoffe entstehen, die auf die Gefäße wirken, oder ob die Wirkung eine rein mechanische ist, wird schwer zu entscheiden sein.

Einen breiten Raum können die Beobachtungen am Kreislauf des *Darmkanals* einnehmen. Am vorteilhaftesten beobachtet man, ohne auch nur die Därme zu berühren, an einer vorliegenden Darm-schlinge. Der Kreislauf am Darm ist übersichtlich, aber auch hoch empfindlich. Bei längerer Beobachtung stellen sich Trübungen ein, die auf eine beginnende Entzündung hinweisen. Man untersuche nicht zu lange und namentlich nicht die verschiedenen Substanzen hintereinander an dem gleichen Präparat; der Grund hierfür geht aus dem

<sup>1)</sup> *Langendorff*, Zentralbl. f. Physiol. **21**, 551. 1908. *N. P. Krawkow*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **157**, 501. 1914. — Dasselbst auch weitere Literatur. Die Ergebnisse der zahlreichen Untersucher widersprechen sich großen Teils.

Folgenden ohne weiteres hervor. — Wir gingen von der Beobachtung am Muskel aus, daß Stoffe die in dem betreffenden Organ im Stoffwechsel entstehen und für die Funktion des Organs von Bedeutung sind, auch einen entsprechenden Einfluß auf die Gefäßweite haben. Gerade der Darm mußte für solche Untersuchungen geeignet sein. Aus den Untersuchungen *le Heux* geht hervor<sup>1)</sup>, daß im Darm *Cholin* gebildet wird, und daß dieser Stoff als Urheber der normalen Darmbewegung zu gelten hat. Unser Versuch gestaltet sich nun folgendermaßen. Nach der Eröffnung der Bauchhöhle warten wir einige Minuten, befeuchten mit Ringerlösung und geben schließlich einige Tropfen einer Acetylcholinlösung 1/2000 (wir untersuchten zwischen 1/1000 und 1/10 000) auf eine frei zutage liegende Schlinge. Der Erfolg ist ganz auffallend. Die Gefäße erweitern sich mächtig, und zwar Arterien und Venen. Es wird ein Capillarkreislauf sichtbar, der vorher gar nicht zu sehen war. Der Blutumlauf ist sehr stark beschleunigt. Oft setzt gleichzeitig eine Bewegung der Darmschlingen ein, die einer beschleunigten Normalbewegung gleichkommt und keinen krampfartigen Charakter hat<sup>2)</sup>. Daß die Bewegung des Darmes nicht die Ursache der Gefäßerweiterung sein kann, geht schon daraus hervor, daß die Mächtigkeit in gar keinem Verhältnis zu der mäßigen Darmbewegung steht, daß die Gefäßerweiterung noch zu sehen ist, wenn die Bewegung längst wieder langsam ist oder überhaupt aufgehört hat, ferner daß Gefäßerweiterung zu beobachten ist, auch wenn gar keine gesteigerte Bewegung eintritt. Die Pilocarpinwirkung ist entsprechend, wenn auch ruckartiger und rascher abklingend. Nur am veränderten oder vorbehandelten Darmkreislauf sieht man auf Cholin oft eine primäre Kontraktion mit folgender Erweiterung der Gefäße (siehe später).

Im Gegensatz hierzu ist die stark constrictorische Wirkung des *Adrenalins* auf die Darmgefäße bekannt. Der Darm, der vorher noch gut durchblutet war, wird vollkommen weiß. Meist erfolgt gleichzeitig eine krampfartige Bewegung der Darmschlinge. Aber auch hier gehen genau wie oben Gefäßwirkung und Wirkung auf die Darmbewegung nicht Hand in Hand.

Eine eigenartige Stellung nimmt das *Atropin* ein. Atropin 1/1000 wirkt auf den intakten Darmkreislauf überhaupt nicht ein. Hat man aber durch Cholin eine starke Gefäßerweiterung erzielt und läßt dann Atropin einwirken, so erhält man prompt eine sehr deutliche Verengerung der Gefäße, die über die Normalenge hinausgeht. Ob die Adrenalinwirkung andererseits durch Atropin begünstigt wird, ließ sich

<sup>1)</sup> *Le Heux*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **173**, 8. 1918; **179**, 177. 1920.

<sup>2)</sup> Siehe auch *Aberhalden* und *Wertheimer*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **194**, 168. 1922.

nicht eindeutig feststellen; wir hatten den Eindruck, daß es nicht der Fall war.

Wir haben weiterhin die Wirkung von *Säuren* und *Alkalien* auf die Gefäßweite untersucht. Es ergab sich, daß durch *Milchsäure* keine sichere Wirkung zu erzielen war, höhere Konzentrationen, z. B. 1/1000, können ätzend wirken (irreversible Verengung). Auch  $CO_2$  in gesättigter Lösung ergab keinen sicheren Einfluß auf die Gefäßweite des Darmes. *Alkalien* in höheren Konzentrationen, z. B. Sodalösung 1/1000, ergab eine deutliche Verengung.

An den Darmgefäßen haben wir weiterhin noch verschiedene Ionenwirkungen untersucht. Mit 0,5proz. und 1proz.  $CaCl_2$ -Lösung, aber auch mit stark Ca angereicherter (0,2  $CaCl_2$ ) Ringerscher Flüssigkeit erhielten wir eine deutliche Gefäßerweiterung und Strombeschleunigung. Die Ca-Wirkung blieb weit hinter der Cholinwirkung zurück. Auch die Darmbewegung konnte durch Ca angeregt werden. Ganz analog wie Calcium verhielt sich *Magnesium*.

*Kalium*, wie oben angewandt, ergab eine prompte, sehr starke Gefäßkontraktion, gewöhnlich verbunden mit einem Darmspasmus. Barium übte eine gleiche Wirkung aus. Die Kaliumwirkung ist durch Pilocarpin bzw. Cholin nicht ohne weiteres aufhebbar. Erst wenn vorher etwas  $CaCl_2$ -Lösung zugegeben wird und dann Cholin, so tritt die Cholinwirkung sofort ein. Zur normalen Cholinwirkung ist ein bestimmtes Verhältnis K/Ca notwendig. Ist Kalium im Überschuß, so tritt die Cholinwirkung nicht ein, oder erst wenn die Cholinlösung weggespült ist, oder  $CaCl_2$ -Lösung zugegeben wird. Ist Calcium stark im Überschuß, so tritt eine inverse Cholinwirkung ein, wie wir noch auseinandersetzen werden.

Angeregt durch die Untersuchungen von *Aberhalden* und *Gellhorn*<sup>1)</sup> haben wir versucht, das Cholin, welches ja auch als ein Inkret aufzufassen ist, in seiner Wirkung durch andere Inkrete zu beeinflussen. Zunächst fanden wir, daß *Thyreoidaeopton* und *Hypophysisopton* (0,05/10) primär keine Wirkung auf die Gefäßweite zeigten. Wurde nun eine Darmschlinge mit Thyreoidae- oder Hypophysisopton vorbehandelt und nachher Cholin zugegeben, so trat merkwürdigerweise eine deutliche Verengung der Gefäße ein. Wir haben also durch diese Art der Vorbehandlung eine direkte Umstimmung der Cholinwirkung erzielt. Durch Vorbehandlung mit  $CaCl_2$ -Lösung können wir ebenfalls eine solche Umstimmung erzielen. Ob der Mechanismus beide Male der gleiche ist, ist fraglich. Ferner sei erwähnt, daß umgekehrt durch Vorbehandlung mit Cholin die Ca-Wirkung umgestimmt wird, so daß eine Verengung der Gefäße eintritt.

Es gelang uns nicht die Adrenalinwirkung in gleicher Weise umzustimmen. Daß die Adrenalinwirkung nach Vorbehandlung mit

<sup>1)</sup> Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **193**, 47. 1921.

Thyreoideaopton verkürzt und abgeschwächt war, sei noch erwähnt. Wichtig erscheint uns, daß es gelingt, die nach Vorbehandlung eingetretene Cholin- oder Adrenalin- und auch die maximale Cholin-Adrenalin-Kontraktion der Gefäße durch wenige Tropfen Thyreoideaopton oder Hypophysisohton zu einer starken, oft maximalen Erweiterung zu bringen. Bestand gleichzeitig eine Darmkontraktion, so wurde diese augenblicklich gelöst und eine beschleunigte normale Darmbewegung trat wieder ein. Es sei nochmals betont, daß diese Untersuchungen am frischen, gut durchbluteten Präparat auszuführen sind.

Selten ist man in der Lage den *Leberkreislauf* in vollem Gange zu beobachten. Meist kommt er sehr rasch zum Stillstand. Man kann also nur hoffen am ganz frischen Präparat einigermaßen gute Bilder zu bekommen. Wir haben nun, ausgehend von der Darmwirkung, zunächst versucht mit *Cholin*, *Pilocarpin*, ferner durch *Ca* den Kreislauf zu beschleunigen. Es ist nicht gelungen, auch nur die geringste Wirkung zu erzielen. Auch *Säuren* waren ohne Wirkung. Dagegen wirkte *Adrenalin* sofort und sehr stark, wie auch makroskopisch schon zu sehen ist. Meist kommt der durch Adrenalin zum Stillstand gekommene Kreislauf nicht mehr in Gang. Leichter ist es, den *Milz-kreislauf* zu beobachten. Wir können uns kurz fassen, weil auch am Milzkreislauf nur *Adrenalin* von sicherer Wirkung war.

Zur Untersuchung des Kreislaufes in *Niere* und *Nebenniere* verwendet man zweckmäßigerweise männliche Frösche. Die Organe der Leibeshöhle werden vorsichtig zur Seite geschoben, die Niere wird so freigelegt, ohne daß ein anderes Organ entfernt werden muß. So ist es leicht, den Nierenkreislauf in vollem Gang zu Gesicht zu bekommen und auf diese Weise bleibt er oft stundenlang gut im Gange. Zunächst orientiert man sich über die einzelnen Teile: Aa renales, Pfortaderkreislauf der Niere, Ven. revehentes usw.<sup>1)</sup>

Wir begannen die Untersuchungen mit dem Studium der *Adrenalin*-wirkung an der Niere. Wir verwendeten Konzentrationen von 1/10 000 bis 1/50 000. Die Wirkung tritt augenblicklich ein. Das Gesichtsfeld erblaßt. Schaut man jedoch näher zu, so sind doch quantitative Unterschiede zu beobachten. Die Arterien kontrahieren sich maximal und verharren einige Zeit in diesem Zustand. Am Pfortadergebiet und namentlich an den großen Ven. revehentes ist die Wirkung sofort zu sehen, aber weniger stark und weniger nachhaltig, so daß aus den letzteren bald wieder Blut abzufließen beginnt, während die Arterien noch stark kontrahiert sind. Wir haben gleichzeitig die Wirkung des Adrenalins an den Gefäßen beobachtet, die die Nebenniere massenhaft durchziehen. Wir vermißten nicht nur eine Verengerung, sondern es trat augenblicklich eine Erweiterung der Gefäße ein, verbunden mit

<sup>1)</sup> Siehe *Gaupp*, Anatomie des Frosches 2, II, 330 u. 416. 1899.

einer Beschleunigung des Blutstromes. Vergleichen wir mit der anliegenden Niere, so ist der Unterschied augenscheinlich; in diesen Stillstand und maximale Kontraktion der Arterien und der feinen Verzweigungen des Pfortadergebietes, die großen Venae revehentes allein zeigen noch Strömung, in jener der ungestörte beschleunigte Kreislauf in den erweiterten Gefäßen. Wir sehen gerade an diesem Beispiel, wie wichtige Produkte eines Organs die Gefäßweite gerade in diesem Organ bestimmen können. Wir haben beim Frosch bei keinem Organ eine Gefäßerweiterung durch Adrenalin erzielen können, außer gerade bei der Nebenniere.

*Cholin, Pilocarpin, Atropin* erwiesen sich als unwirksam.

*Kalium*, das am Darm prompt vasoconstrictorisch wirkt, erweitert die Venen des Nierenkreislaufes und beschleunigt den Blutstrom. Von *Ca* und *Mg* sahen wir keine deutliche Wirkung. *Ba* wirkte constrictorisch. *Säuren* und *Alkalien* in den immer angewandten Konzentrationen hatten keine Wirkung. Endlich untersuchten wir noch die *Coffeinwirkung*. Meist sahen wir eine Beschleunigung des Blutstromes dabei, während die Vasodilatation nicht immer ausgeprägt war.

Wenn wir alle Untersuchungen überblicken, so müssen wir zunächst betonen, daß jedes Organ seine eigenartigen, ihm angepaßten Gefäße hat, jedes Organ hat seinen individuellen Kreislauf.

Vergleichen wir z. B. Lungengefäße und Darmgefäße, diese mit Nierengefäßen, diese wieder mit den Leber- und Milzgefäßen, die Hautgefäße mit den Muskelgefäßen (Hautgefäße reagieren auf Milchsäure z. B. gar nicht, erweitern sich durch Einwirkung von Alkalien<sup>1)</sup> usw., überall treffen wir Unterschiede. Greifen wir das Adrenalin heraus, oder verschiedene Ionen, oder Säuren und Alkalien, in jedem Organgebiet haben wir andere Wirkungen.

Im Laufe unserer Untersuchungen kamen wir nun zu der Vorstellung, daß die Gefäßweite der verschiedenen Organe von Stoffen beeinflußt wird, die im Stoffwechsel der betreffenden Organe entstehen, oder in ihnen ausgeschieden werden, und die gewöhnlich auch funktionelle Bedeutung haben. Diese Vorstellung soll nochmals zusammenfassend hier erörtert werden. Es muß betont werden, daß übergeordnete Regulatoren ebenfalls von großer Bedeutung sind. Wir konnten zeigen, daß der intakte Kreislauf des Muskels durch Milchsäure und Phosphorsäure beschleunigt wird und die Gefäße erweitert werden. *Gaskell*<sup>2)</sup> berichtet zum ersten Male über Gefäßerweiterung des Muskels durch verdünnte Milchsäure auf Grund von Durchströmungsversuchen.

<sup>1)</sup> *W. Jacoby*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **86**, 49. 1920; **88**, 333. 1920.

<sup>2)</sup> *W. H. Gaskell*, Journ. of physiol. **3**, 48. 1880.

Dieser Befund wurde später teils bestätigt, teils vollkommen abgelehnt<sup>1)</sup>. Wir glauben, daß gerade für die Fragestellung, ob Stoffwechselprodukte auf die Gefäßweite eines Organes eine Wirkung ausüben, unsere Versuchsanordnung geeigneter war als die Durchströmung. Die Stoffwechselprodukte wirken zunächst und in stärkster Konzentration von außen auf die Gefäße ein. Sind diese Stoffe erst in die Blutbahn gelangt, so tritt einmal starke Verdünnung ein, ferner in den meisten Fällen Umwandlung in womöglich unwirksame Produkte. Ferner wissen wir nicht mit Sicherheit, wie wir durch unsere Durchströmungsflüssigkeit die Reaktion der Gefäße vollkommen verändern. So hat *R. J. Hamburger*<sup>2)</sup> in neuester Zeit darauf aufmerksam gemacht, daß das  $K : Ca$ -Gleichgewicht die Gefäßweite beeinflusst; geringste Abweichungen vom normalen Verhältnis  $K : Ca$  bedingen Gefäße, die nicht normal sind und man kann aus dem Verhalten verschiedener Substanzen auf die abnormen Gefäße keine Schlußfolgerungen bezüglich ihres Verhaltens auf normale Gefäße ziehen. Ob nicht noch andere Einflüsse am Trendelenburgschen Präparat von ähnlicher Bedeutung maßgebend sind, wissen wir noch nicht.

Diese Säurewirkung an den Muskelgefäßen ist schon von *Gaskell* derart verallgemeinert worden, daß er zur Ansicht gelangt, daß saure Stoffwechselprodukte ganz allgemein die Erweiterung der Gefäße tätiger Organe bedingen. Diese allgemeine Auffassung können wir durch unsere Versuche nicht bestätigen. Am intakten Kreislauf bleibt diese deutliche Milchsäurewirkung auf den Muskelkreislauf beschränkt.

Wir konnten ferner zeigen, daß Cholin, von dem wir seit den Untersuchungen *le Heuxs*<sup>3)</sup> wissen, daß es in der Darmwand gebildet wird und hervorragenden Anteil hat an der Hervorbringung der normalen Darmbewegung, die Darmgefäße stark erweitert und die Blutströmung maximal beschleunigt. Auch diese Cholinwirkung konnten wir ausschließlich an den Darmgefäßen beobachten.

Gerade an der Cholinwirkung konnten wir zeigen, daß diese nicht für allemal als gegeben zu betrachten ist, sondern wie hier andere Inkretstoffe (Thyreoidea und Hypophysis) regulatorisch eingreifen können. So konnten wir durch die erwähnten Inkrete eine Umkehr der normalen Cholinwirkung erzielen. Andererseits konnten wir maximale Gefäßkontraktionen, und was besonders interessant ist, starke Darmspasmen am vorbehandelten Darm glatt durch diese beseitigen.

<sup>1)</sup> *Tomitu*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **116**, 299. 1907; *Schwarz* und *Lemberger*, daselbst **141**, 149. 1911; *H. Ischikawa*, Zeitschr. f. allg. Physiol. **16**, 233. 1914; *R. G. Pearce*, Zeitschr. f. Biol. **62**, 243. 1913; *A. Fleisch*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **171**, 76. 1918; siehe auch *E. Atzler* und *G. Lehmann*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **190**, 118. 1921.

<sup>2)</sup> *R. J. Hamburger*, Bioch. Zeitschr. **129**, 153. 1922.

<sup>3)</sup> l. c.

Ferner erwies sich die Cholinwirkung als abhängig von einem gewissen Verhältnis von Ca : K-Ionen. Tritt ein Überschuß einer der beiden Ionen ein, so wird die Cholinwirkung verändert. Wir sehen also, daß die gewöhnliche Cholinwirkung nur am Darm beobachtet wird, der sich in einem bestimmten Gleichgewichtszustand befindet.

Durch die Untersuchungen an der Nebenniere wurde unsere oben erwähnte Vermutung besonders bestätigt. Die Gefäße, die durch die Nebenniere ziehen, werden durch Adrenalin erweitert, der Blutstrom beschleunigt. Es ist wiederum interessant, daß Adrenalin gerade in dem Organe, in welchem es gebildet wird, eine Gefäßerweiterung hervorruft, während es an allen übrigen untersuchten Organen entweder eine maximale Verengung, oder wie an den Herz- und Lungengefäßen keine Veränderung hervorbringt. Gefäßerweiterung durch Adrenalin konnten wir am Frosch jedenfalls ausschließlich an der Nebenniere beobachten.

Die Beobachtung am Lungenkreislauf, wo wir allein durch CO<sub>2</sub> übersättigte Lösungen Gefäßerweiterung erzielen konnten, während die große Zahl der anderen (sonst wirksamen) Substanzen wirkungslos war, stützt in gewissem Sinne ebenfalls unsere Anschauung. Es ist uns wahrscheinlich, daß die Gefäßweite im Lungenkreislauf hauptsächlich bestimmt wird durch den CO<sub>2</sub>-Gehalt des Capillarblutes bzw. der Alveolarluft.

Endlich sei hier noch hervorgehoben, daß schon *Henderson* und *Loewi* auf Grund sehr eingehender Versuche an der Speicheldrüse zu dem Resultat kommen, daß die Vasodilatation bei gesteigerter Drüsentätigkeit, hervorgerufen in dem speziellen Falle durch Pilocarpin, durch die vasodilatatorische Wirkung der bei der Drüsentätigkeit entstehenden Produkte, erzeugt werde<sup>1)</sup>. — Auch *Ebbecke*<sup>2)</sup> kam beim Studium der lokalen vasomotorischen Reaktion nach Ausschluß anderer Erklärungsmöglichkeiten zur Ansicht, daß die Erweiterung der Capillaren durch ausgeschiedene Stoffwechselprodukte herbeigeführt wird. — Die lange Latenzzeit, die vergeht, bis auf einen starken Reiz die dilatatorische Wirkung eintritt, ferner die Dauer der Nachwirkung sind Gründe, die schon von *Frey*<sup>3)</sup> veranlaßten, sich die dilatatorische Wirkung als chemisch vermittelt zu denken. Vor allen Dingen dürfte auf Grund der Beobachtungen von *Emil Abderhalden* und *E. Gellhorn*<sup>4)</sup> bestimmten Inkretstoffen mit an Ort und Stelle entstehenden Stoffwechselprodukten zusammen ein Einfluß auf die Regelung der Weite der Blutgefäße zukommen.

<sup>1)</sup> Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **53**, 62. 1905; siehe auch *Barcroft*, Proc. of physiol. **6**, Nr. 28, S. 361.

<sup>2)</sup> *U. Ebbecke*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **169**, 1. 1917.

<sup>3)</sup> Vorlesungen über Physiologie, Berlin 1904, S. 96.

<sup>4)</sup> Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **193**, 47. 1922. Vgl. auch *Emil Abderhalden*, Klinische Wochenschr. **1**, Nr. 1. 1922.



# Die morphologische Grundlage der sympathischen Innervation des quergestreiften Muskels und die Lokalisation der Zwischenschaltganglien der tonusgebenden Faser für den quergestreiften Muskel.

Von

Prof. Dr. Ken Kuré, Priv.-Doz. Dr. Tetsushiro Shinosaki, Dr. Michio Kishimoto und Dr. Shigeoki Hatano.

(Aus der I. med. Klinik der kaiserlichen Universität zu Fukuoka.)

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Juli 1922).

## 1. Die morphologische Grundlage der sympathischen Innervation des quergestreiften Muskels.

Die doppelte (autonome und motorische) Innervation des Tonus der quergestreiften Muskeln haben wir experimentell und klinisch festgestellt und in früheren Mitteilungen genau beschrieben. Dabei haben wir schon die Meinung geäußert, daß die sympathische Innervation je nach den Muskeln graduell stärker sei. Diese Tatsache sicherzustellen, haben wir zuerst versucht, die Zahl von *Boekes* akzessorischen Endplättchen in allen Muskeln zu vergleichen. Es war aber fast unmöglich, weil die Technik für die Färbung der letzteren äußerst schwierig war. So wollten wir den Grad der sympathischen Innervation des Muskels aus der Größe des Kreatingehaltes schließen. So hat *Hoshino* von unserer Klinik an Kaninchen, Katzen, Hunden, Pferden und Affen den Kreatingehalt von verschiedenen Muskeln gemessen. Aus seinem Resultate sah man, daß die Stammuskeln und die starken Muskeln, die dem Stamme näher liegen, größeren Kreatingehalt zeigen als die schwachen Muskeln, die von dem Stamme entfernt liegen. Das Untersuchungsergebnis an den menschlichen Leichen war nicht hoch zu schätzen, weil die Kranken vor dem Tode schon lange Zeit ans Bett gefesselt waren; doch ist hervorzuheben, daß der Kreatingehalt der Kleinhandmuskeln auffallend klein war.

*Shimbo* von unserer Klinik hat in manchen peripheren Nerven zahlreiche größere und kleinere Bündel von sympathischen Fasern konstatiert, die im Querschnitt des mit *Weigertscher* Färbung behandelten Nerven als helle Herde hervortreten. Er hat weiter festgestellt, daß solche sympathischen Bündel am N. phrenicus, an den Nn. intercostales und an Muskelästen für die Rückenmuskeln am reichlichsten, dagegen am N. medianus äußerst gering sind.

*Hatano* vom pathologischen Institut hiesiger Universität hat diese Forschung von *Shimbo* fortgesetzt. Er hat festgestellt, daß die helle Stelle in der *Weigertschen* Färbung durch *Bielschowskys* Färbungsmethode als Achsenzylinderbündel sich äußern. Um zu beweisen, daß diese sogenannte marklose Faser<sup>1)</sup> zum Sympathicus gehört, hat *Hatano* einen Hund, dem der linksseitige Grenzstrang vor 9 Monaten fast vollständig extirpiert worden war, zur histologischen Untersuchung genommen. *Hatano* hat an diesem Tiere beide Nervi femorales

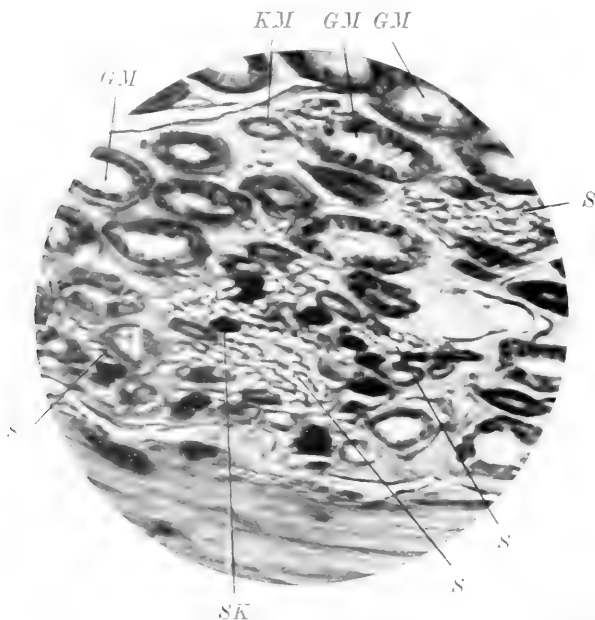


Abb. 1. Querschnitt des N. peroneus communis des Menschen, Vergrößerung 1100, Weigertsche Markscheidenfärbung. *GM* = große markhaltige Faser. *KM* = kleine markhaltige Faser. *S* = sympathische Faser. *SK* = Neurilemmkern der sympathischen Faser.

und die Muskeläste für den *M. glutaeus maximus* vergleichend untersucht; er hat im rechten Femoralis im ganzen 197 größere und kleinere Herde von sympathischen Bündeln gefunden. Im linken Femoralis konnte er dagegen nur 29 Herde derselben konstatieren; in diesen zurückgebliebenen Herden war die Zahl der sympathischen Fasern auch bedeutend vermindert. An entsprechender Stelle im linken Femoralis, wo rechts gerade sympathische Bündel nachweisbar waren, sah er bloß homogene Bindegewebsmasse. Am linken Muskelast für den *M. glutaeus maximus* hat er ebenfalls hochgradige Verminderung der sympathischen Fasern konstatiert.

<sup>1)</sup> Ob solche Faser in der Tat marklos ist, soll hier dahingestellt bleiben.

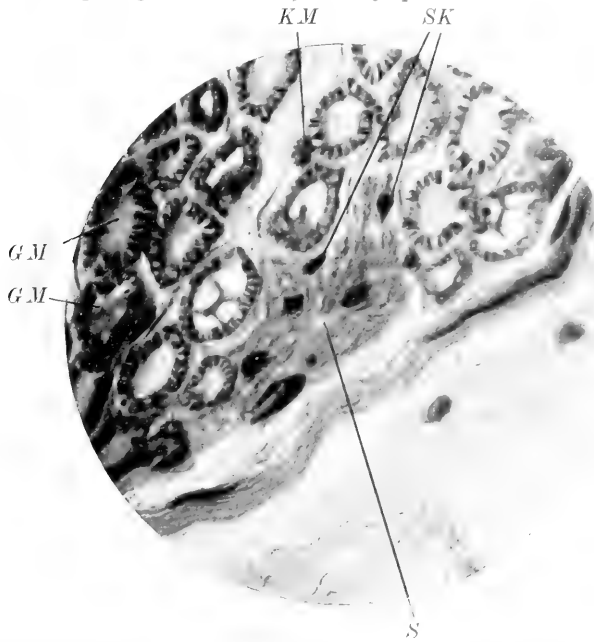


Abb. 2. Querschnitt des N. femoralis des Hundes (rechts, ohne Operation), Vergrößerung 800, Weigertsche Markscheidenfärbung. *SK* = Neurolemmkern der sympathischen Faser. *S* = Bündel der sympathischen Faser. *GM* = große markhaltige Faser. *KM* = kleine markhaltige Faser.

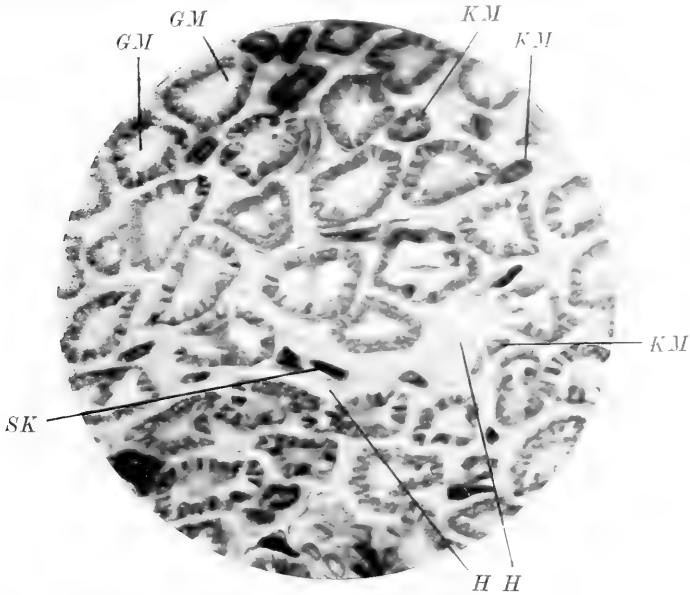


Abb. 3. Querschnitt des N. femoralis desselben Hundes (links, linker Grenzstrang war vor 9 Monaten extirpiert). Vergrößerung 1000, Weigertsche Markscheidenfärbung. *M* = große markhaltige Faser. *KM* = kleine markhaltige Faser. *H* = Herd des homogenen Bindegewebes, welcher dem Bündel der sympathischen Fasern in Abb. 2 entspricht. *SK* = Neurolemmkern der sympathischen Faser.

An einem anderen Hunde, dem der linke Grenzstrang vor 2 Wochen exstirpiert worden war, kamen wir zu ähnlichem Resultate.

Durch diese Versuche ist es festgestellt, daß die marklosen Fasern im peripheren Nerven fast ausschließlich zum Sympathicus gehören, und das durch die Exstirpation des Grenzstranges die Verbindung dieser sympathischen Fasern mit ihrem trophischen Zentrum durchgetrennt ist.

*Hatano* hat die peripheren Nerven des menschlichen Körpers (an 18 nervengesunden Leichen untersucht) nach dem Grade des Sympathicusgehaltes in fünf Gruppen geteilt.

1. Nerven, die sehr reichlich sympathische Fasern enthalten: N. phrenicus, Nn. intercostales, Rami musculares für Rückenmuskeln.

2. Nerven, die reichlich sympathische Fasern enthalten: N. femoralis, R. muscularis für M. pectoralis major, R. muscul. für M. glutaeus maximus, R. muscul. für M. quadriceps femoris.

3. Nerven, die die sympathischen Fasern mittelmäßig enthalten: N. ischiadicus, R. n. für M. trapecius und für M. biceps brachii, N. radialis, N. ulnaris, N. tibialis, N. peroneus, R. m. für M. deltoid.

4. Nerven, die etwas weniger sympathische Fasern enthalten: R. m. für M. gastrocnemius, N. medianus, N. axillaris.

5. Nerven, die bloß wenige sympathische Fasern enthalten: R. m. für M. pollicis brevis, R. m. für Mm. lumbricales.

Diese Einteilung stimmt gut mit *Shimbo's* Ergebnis überein. Er hat sonst noch an schönen Präparaten von N. peroneus die Zahl der enthaltenen marklosen und markhaltigen Fasern berechnet und bekam folgendes Resultat:

	Markhaltige Fasern	Marklose Fasern
N. peroneus profundus	7115	5592
rund	1,3	1
N. peroneus superficialis	5956	5711
rund	1	1

Aus diesem Resultate ersieht man, daß die peripheren Nerven der dritten Gruppe doch bedeutend zahlreiche sympathische Fasern enthalten, und daß in den Nerven, die zur ersten und zweiten Gruppe gehören, die Zahl der marklosen Fasern die der markhaltigen meist übertrifft.

Obwohl die sympathischen Nervenfasern im Muskelast möglicherweise nach den Gefäßen ihrer Zone hinziehen, muß man doch wohl annehmen, daß der größte Teil dieser sympathischen Fasern den betreffenden Muskel selbst innerviert.

Unserer Behauptung, daß gewisse Skelettmuskeln besonders stark sympathisch (tonisch und trophisch) innerviert sind, ist dadurch eine unleugbare morphologische Stütze gegeben.

2. *Lokalisation der Zwischenschaltganglien der tonusgebenden Faser für den quergestreiften Muskel.*

Wir versuchten durch Nikotinapplikation die Lokalisation der Zwischenschaltganglien der tonusgebenden Fasern zu bestimmen. Es wurde an vier Hunden und einer Katze experimentiert.

Hund Nr. 1. 5 Kilo. 29. III. 1922.

Vor der Operation wurden die Rigidität und der Kniereflex beider Hinterbeine untersucht, Kniereflex war beiderseits gleich stark und lebhaft. Die Bauchhöhle durch große Bauchschnitte geöffnet, der linke Grenzstrang bloßgelegt. 1 proz. Nicotininlösung auf denselben gepinselt. Nach 5 Minuten bemerkte man klonische Krämpfe, Atemstörung und Salivation. Beide Hinterbeine wurden vergleichend untersucht, die Rigidität war beiderseits, besonders links stärker herabgesetzt. Kniereflex war links vollständig erloschen, rechts stark herabgesetzt. Adrenalin 1 ccm (1<sup>0</sup>/<sub>100</sub>) subcutan injiziert, 15 Minuten nach der Injektion wurde der Kniereflex wieder deutlich auslösbar, links stärker als rechts. Nach 1,5 Stunden wurde die Rigidität und der Patellarreflex des linken Hinterbeines stärker als vor der Operation, rechts gerade wie vor der Operation.

Hund Nr. 2. 3,7 Kilo. 29. III. 1922.

Vor der Operation war die Rigidität normal, der Kniereflex lebhaft. Dünne Nicotininlösung auf den linken Grenzstrang gepinselt. Sofort nach der Bepinselung war die Rigidität und der Patellarreflex links stärker als vor der Operation, rechts normal. Dann wurde reichliche Menge von 1 proz. Nicotininlösung auf den linken Grenzstrang gepinselt. Die Rigidität und der Patellarreflex waren links stärker herabgesetzt als in der anderen Seite. Nach 1 Stunde war die Rigidität und der Patellarreflex noch deutlich herabgesetzt.

Hund Nr. 3. 3,7 Kilo. 15. IV. 1922.

Vor der Operation. Rigidität der Hinterbeine beiderseits normal. Patellarreflex beiderseits normal. 1 proz. Nicotininlösung auf den linken Grenzstrang gepinselt. 2 Minuten nach der Bepinselung: Rigidität links ganz schlaff, rechts fast normal. Patellarreflex links fast erloschen, rechts fast normal. 5 Minuten nach der Bepinselung: Rigidität beiderseits schlaff. Patellarreflex links erloschen, rechts stark herabgesetzt. 10 Minuten nach der Bepinselung: Rigidität und Patellarreflex dasselbe. 25 Minuten nach der Bepinselung: Rigidität beiderseits fast normal, Patellarreflex ebenso fast normal.

Hund Nr. 4. 11 Kilo. 15. IV. 1922.

Vor der Operation war die Rigidität normal und der Kniereflex lebhaft. Geringe Menge von 1 proz. Nicotininlösung auf den linken Grenzstrang gepinselt. Sofort nach der Bepinselung und 4 Minuten darnach untersucht, die Rigidität und der Patellarreflex fast normal. 10 Minuten nach der Bepinselung war der linke Patellarreflex etwas gesteigert. Größere Dose von 1 proz. Nicotininlösung wurde wieder auf den linken Grenzstrang gepinselt. 4 Minuten nach der Bepinselung waren beide Beine ganz schlaff, besonders links war es hochgradig, der Patellarreflex links erloschen, rechts deutlich herabgesetzt. 10 Minuten nach der Bepinselung war die Rigidität beiderseits stark herabgesetzt, Kniereflex beiderseits vollständig erloschen.

Katze, 3,050 Kilo. 19. IV. 1922.

Vor der Operation war Rigidität normal, Patellarreflex lebhaft, beim Hängen am Nacken zog das Tier die Hinterbeine an den Leib. Auf linken Grenzstrang eine 1 proz. Nicotininlösung appliziert, 2 Minuten nach der Bepinselung untersucht. Rigidität war links bedeutend schwach, Kniereflex schwer auslösbar, während

er rechts noch leicht nachweisbar war. An beide Beine wurde ein Gewicht von 600 g gebunden, linkes Bein hängt tiefer, also hat es die physiologische Beugstellung verloren. Während der Untersuchung wurde die Differenz un deutlich, 7 Minuten nach der Bepinselung waren beide Patellarreflexe nicht mehr hervorzurufen. Rigidität beider Beine stark herabgesetzt. Beim Hängen am Nacken waren beide Beine nicht an den Leib gezogen, sondern langgestreckt. Bald nachher starb das Tier durch Vergiftung.

Aus den oben beschriebenen Versuchen ersieht man, daß die Rigidität und der Kniereflex des linken Beines durch Applikation von Nicotininlösung auf den linken Grenzstrang stark herabgesetzt werden. Vor dieser Herabsetzung sieht man manchmal im Frühstadium das Reizsymptom. Die Nicotinaffektion des anderseitigen Grenzstranges kann man gut verstehen, wenn man daran denkt, daß die beiderseitigen Grenzstränge nebeneinander ganz nahe vor der Wirbelsäule liegen, so daß die Nicotininlösung von einem Grenzstrang nach dem anderen leicht diffundieren kann.

Das obenerwähnte Experiment zeigt uns, daß der zentrale tonusgebende Impuls auf die Hinterbeine durch Nicotinapplikation auf den Grenzstrang unterbrochen wird, auch zeigt es gleichzeitig, daß die sympathische Faser für den quergestreiften Muskel ihre Umschaltungsstelle im Grenzstrang findet, weil seit *Langley* es als Regel betrachtet wird, daß das Nikotin elektiv auf die Zwischenschaltganglien lähmend wirkt.

# Weitere Studien über das Wesen des anaphylaktischen Schockes.

II. Mitteilung.

## Untersuchungen über den Gesamt- und den Gewebsgaswechsel im anaphylaktischen Schock bei Tauben.

Von

Emil Abderhalden und Ernst Wertheimer.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Halle a. S.)

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Juni 1922.)

Wir haben unsere Versuche nach dem Wesen des anaphylaktischen Schockes weiter fortgesetzt. Wir konnten in einer früheren Mitteilung<sup>1)</sup> zeigen, daß bei Meerschweinchen in diesem Zustande ein Sinken des Gesamtgaswechsels stattfindet. Ferner wurde gezeigt, daß auch der Gaswechsel der Gewebe verringert ist. Von besonderer Bedeutung ist, daß der Abfall des Gaswechsels in keinem Zusammenhang mit den im anaphylaktischen Schock auftretenden äußeren Symptomen steht, d. h. er ist nicht durch eine Atmungsbehinderung etwa infolge eines Bronchialmuskelkrampfes oder durch vasomotorische Lähmung bedingt.

Wir haben diese Versuche fortgesetzt, und zwar wählten wir als Versuchstier die Taube. Sie erwies sich für derartige Versuche als besonders geeignet. Über Anaphylaxie bei Tauben ist nur wenig bekannt. *Friedberger* und *Hartoch*<sup>2)</sup> führen einige Versuche an. Zwischen der ersten Injektion und der Reinjektion ließen wir im Durchschnitt 3 Wochen Zwischenraum. Die erste Injektion wurde intramuskulär, die Reinjektion teils intraperitoneal, teils intramuskulär ausgeführt. Bei der letzteren Art der Reinjektion waren die Erscheinungen deutlicher ausgeprägt. In allen Fällen wurde Rinderplasma benutzt. Das

<sup>1)</sup> *Abderhalden, Emil* und *Ernst Wertheimer*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **195**, 487. 1922.

<sup>2)</sup> *Friedberger* und *Hartoch*, Zeitschr. f. Immunitäts-Forsch. **3**, 638. 1909.

symptomatische Bild des anaphylaktischen Schocks ist sehr arm an auffallenden Erscheinungen. Die Taube wird nach der Reinjektion nur bei ausgeprägter Wirkung allmählich etwas matter. Oft bemerkt man, daß das Tier zu zittern anfängt. Das einzige sichere Symptom des anaphylaktischen Schocks bei der Taube ist die Temperatursenkung. Diese vollzieht sich bei der normalen Taube ganz allmählich; dann bleibt die Temperatur auf einem Tiefstand stehen, um endlich allmählich wieder anzusteigen.

Normale Tauben sterben nur ganz selten im Schock. Die Temperatur sinkt dann weiter oder wird unregelmäßig. Gleichzeitig wird die Taube zusehends matter.

Die individuellen Verschiedenheiten sind bei der Anaphylaxie der Tauben lange nicht so ausgeprägt, wie etwa beim Meerschweinchen.

Bei sechs Tauben, von denen zwei im Schock starben, vier im Schock getötet wurden, haben wir die Sektion ausführen können. In keinem Falle war eine deutliche Lungenblähung vorhanden, ebensowenig konnten wir die Anzeichen einer bestehenden Vasomotorenlähmung erkennen.

Es war nun von Interesse, bei solchen Tieren, die weder Atmungsstörungen noch Vasomotorenlähmung zeigten, und nur die Temperatursenkung als einzig greifbares Symptom im Schock aufwiesen, den Gaswechsel zu verfolgen. Zu diesem Zwecke wurden die Tauben gleich nach der Reinjektion in den Gaswechsellapparat gesetzt, worauf in Einzelversuchen von einer halben Stunde Dauer der Gasumsatz gemessen wurde. Das Ergebnis der einzelnen Versuche war vollkommen eindeutig. *Der Gaswechsel sank nach der Reinjektion ziemlich rasch und zwar sehr beträchtlich, blieb mehr oder weniger lang auf dem Tiefstand stehen, um dann ziemlich rasch wieder anzusteigen.* Annähernd entsprechend verlief die Temperaturkurve.

Nachdem das Sinken des Gaswechsels nach erfolgter Reinjektion von Serum im anaphylaktischen Schock festgestellt war, entstand die Frage, wie sich die Gewebsatmung im gleichen Zustand verhält. Es ergab sich, daß der Herzmuskel und die übrige Muskulatur der anaphylaktischen Tiere eine herabgesetzte Atmung zeigten. In besonders hohem Grade war die Atmung der Gehirnssubstanz vermindert, während die Leberzellen eine nur wenig verminderte Atemtätigkeit aufwiesen. Wir haben somit bei den Tauben die gleichen Feststellungen machen können, wie bei den Untersuchungen an anaphylaktischen Meerschweinchen.

Um sicher zu sein, daß die erwähnten Feststellungen über den Gesamtgaswechsel und denjenigen einzelner Gewebe im anaphylaktischen Schock wirklich diesem Zustand eigen und nicht etwa durch Zufuhr des artfremden Plasmas an und für sich bedingt sind, sondern vielmehr Bedingungen zur Voraussetzung haben, die durch eine erste Plasmazufuhr



hervorgerufen werden, untersuchten wir das Verhalten des Gesamt- und des Gewebsgaswechsels nach der ersten Injektion von artfremdem Plasma. Gleichzeitig wurde auch das sonstige Verhalten der Tiere und der Verlauf der Temperaturkurve studiert. Es erhielten normal ernährte Tauben intramuskulär Rinderplasma zugeführt. Das äußere Verhalten der Tiere zeigte keine Besonderheiten. Nur ganz vereinzelt trat leichtes Zittern auf. Die Körpertemperatur fiel im Verlauf der ersten Stunden nach der ersten Injektion um etwa  $1,0^{\circ}$  bis  $1,5^{\circ}$ . Der Gesamtgaswechsel sank. Es war jedoch die Senkung erheblich geringer, als nach erfolgter Reinjektion. Nur ganz vereinzelt war schon bei der ersten Injektion von artfremdem Plasma ein stärkeres Sinken des Gaswechsels bemerkbar. Ein solcher Ausnahmefall ist in Abb. 7 dargestellt.

Die Untersuchung der Gewebsatmung nach erfolgter erster Injektion von artfremdem Plasma ergab für den Herzmuskel, die übrige Muskulatur und die Leber Werte, die im Bereiche des Normalen lagen. Nur die Atemtätigkeit des Gehirns war leicht herabgesetzt. (Vgl. Seite 438, 439.)

Es treten somit bereits bei der ersten Injektion von artfremdem Plasma Erscheinungen auf, die den nach der Reinjektion auftretenden ähnlich, jedoch *quantitativ* verschieden sind. Alle artfremden Plasmen wirken je nach ihrer Art nach der ersten Injektion in verschiedenem Grade giftig. Dörr<sup>1)</sup> hat zuerst darauf hingewiesen, daß die Symptome bei der Vergiftung normaler Tiere durch artfremdes Plasma die gleichen sind, wie bei der Anaphylaxie. Tauben sind gegen Rinderplasma besonders empfindlich. Nicht unerwähnt wollen wir lassen, daß wir zur Kontrolle den Einfluß der Einspritzung einer 0,9proz. Kochsalzlösung auf den Gaswechsel und die Körpertemperatur studiert haben. (Vgl. das Protokoll zu Taube 20, Seite 437 und Abb. 9.) Gaswechsel und Temperatur blieben unbeeinflußt.

Unsere Beobachtungen über das Verhalten des Gesamtgaswechsels und desjenigen einzelner Gewebe geben uns ein neues und ganz besonders empfindliches Mittel in die Hand, um das Wesen des anaphylaktischen Zustandes zu studieren. Das Studium des Gaswechsels ist ohne Zweifel ein noch empfindlicheres Reagens auf Veränderungen im Zellstoffwechsel als die Verfolgung der Körpertemperatur (vgl. z. B. Taube Nr. 15, Abb. 7).

Wir kommen auf Grund der an Meerschweinchen und an Tauben erhobenen Befunden zu dem Ergebnis, daß die im anaphylaktischen Schock zur Beobachtung kommenden Erscheinungen nicht einzig und allein in Veränderungen des Blutplasmas begründet sind, vielmehr

<sup>1)</sup> Dörr und Moldovan, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 7, 223, 1910.

spielen schwere Störungen im Zellstoffwechsel eine und wahrscheinlich die ausschlaggebende Rolle. Wie der herabgesetzte Zellgaswechsel zu erklären ist, wurde nicht aufgeklärt. Es ist leicht möglich, daß Veränderungen im Zustand von Zellinhaltsstoffen das Primäre sind. Wir stützen mit unseren Feststellungen die Ansichten jener Autoren wie *Richet*, *Dörr*, *Beneke* u. A., die bei der Anaphylaxie Veränderungen in den Zellfunktionen annehmen<sup>1)</sup>.

## Experimenteller Teil.

### Gaswechselversuche an anaphylaktischen Tauben.

Taube Nr. V. Dunkelgrau, weiß gesprenkelt (Abb. 1).

Am 10. III. 1922 werden 1 ccm Rinderserum intramuskulär injiziert.

Am 30. III. 1922 4<sup>h</sup> 10. Reinjektion von 1 ccm Rinderserum in den Brustmuskel, vorher wurden die Vorversuche ausgeführt.

Gewicht an diesem Tage 310 g. Temperatur vor der Injektion 40,2°.

Nach der Reinjektion kommt die Taube sogleich in den Gaswechselapparat.

I. Versuch: 4<sup>h</sup> 15—4<sup>h</sup> 45. Die Taube zeigt keine auffallenden Erscheinungen. Temperatur am Ende des Versuchs 37,9.

II. Versuch: 5<sup>h</sup>—5<sup>h</sup> 30'. Das Tier wird etwas matter. Die Temperatur sinkt auf 35,8°.

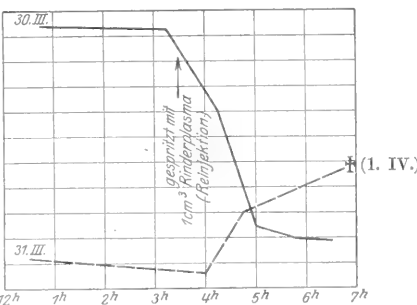


Abb. 1. Am 10. III. 1922 gespritzt mit 1 ccm Rinderplasma. Am 30. III. 1922 gespritzt mit 1 ccm Rinderplasma. Am 1. IV. 1922 früh tot im Käfig.

III. Versuch: 5<sup>h</sup> 45'—6<sup>h</sup> 15'. Keine Veränderung. Temperatur 35,7°.

IV. Versuch: 6<sup>h</sup> 30'—7<sup>h</sup>. Das Tier ist noch matt. Temperatur 35,8°.

31. III. 1922. V. Versuch: 12<sup>h</sup> 30'—1<sup>h</sup>. Das Tier ist noch im gleichen Zustand wie gestern. Temperatur 38,0°.

VI. Versuch: 4<sup>h</sup>—4<sup>h</sup> 30'. Temperatur 37,9°.

VII. Versuch: 4<sup>h</sup> 45'—5<sup>h</sup> 15'. Temperatur 37,9°.

VIII. Versuch: 6<sup>h</sup> 45'—7<sup>h</sup> 15'. Temperatur 38,0°. Außer einer deutlich feststellbaren Mattigkeit zeigt das Tier nichts Auffallendes.

Am 1. IV. liegt die Taube tot im Käfig.

Die Sektion ergab folgenden Befund: Die Lungen sind zurückgesunken, wie gewöhnlich. Die Leber ist nicht besonders groß und nicht auffallend blutreich. Auch sonst kein besonderer Befund.

<sup>1)</sup> Vgl. zu dem ganzen Anaphylaxieproblem die gründliche kritische Übersicht von *Dörr* in den *Ergebn. d. Hygiene, Bakteriologie, exper. Therapie, Immunitätsforsch.* Herausgegeben von W. Weichardt, **5**, 71. 1922.

*Taube Nr. VI*, reinweiß. Hierzu Abb. Nr. 2.

I. Injektion von 1,0 ccm Rinderplasma intramuskulär am 5. IV. 1922.

Reinjektion nach den Gaswechselfersuchen am 27. IV. 1922 (1 ccm intramuskulär) 2<sup>h</sup> 45'.

Temperatur der Taube vor der Reinjektion 41,0°. Gewicht: 345 g.

Nach der Reinjektion kommt die Taube in den Gaswechselapparat.

I. Gaswechselfersuch nach der Reinjektion 3<sup>h</sup> 45'—4<sup>h</sup> 15'.

Die Taube bietet keine irgendwie auffälligen Erscheinungen. Temperatur 4<sup>h</sup> 15' 39,3°.

II. Gaswechselfersuch 4<sup>h</sup> 30'—5<sup>h</sup>.

An der Taube fällt keine Veränderung auf. Temperatur 5<sup>h</sup> 39,6°.

III. Gaswechselfersuch 5<sup>h</sup>—5<sup>h</sup> 30'.

Die Taube ist etwas matter. Temperatur 5<sup>h</sup> 30' 39,1°.

IV. Gaswechselfersuch 5<sup>h</sup> 50'—6<sup>h</sup> 20'.

Keine Veränderung. Temperatur 6<sup>h</sup> 20' 39,1°.

V. Gaswechselfersuch 6<sup>h</sup> 30'—7<sup>h</sup>.

Keine Veränderung. Temperatur 7<sup>h</sup> 38,6°.

Die Versuche werden am anderen Morgen (28. IV. 1922) fortgesetzt.

VI. Gaswechselfersuch 10<sup>h</sup>—10<sup>h</sup> 30'.

Die Taube macht einen völlig normalen Eindruck. Temp. 40,3°. Gew. 329 g.

VII. Gaswechselfersuch 10<sup>h</sup> 45'—11<sup>h</sup> 15'. Temperatur 11<sup>h</sup> 15' 39,5°.

VIII. Gaswechselfersuch

11<sup>h</sup> 45'—12<sup>h</sup> 15'. Temperatur 12<sup>h</sup> 15' 40,1°.

IX. Gaswechselfersuch

12<sup>h</sup> 25'—12<sup>h</sup> 55'. Temperatur 12<sup>h</sup> 55' 40,5°.

X. Gaswechselfersuch 5<sup>h</sup> bis 5<sup>h</sup> 30'. Temperatur 5<sup>h</sup> 30' 40,2°.

Die Taube bietet keine auffallenden Erscheinungen.

*Taube Nr. X*. Abb. 3.

I. Injektion von 1,0 ccm Rinderplasma intramuskulär am 6. IV. 1922.

Reinjektion nach den Gaswechselfersuchen am 1. V. 1922 (1 ccm in den Brustmuskul) 11<sup>h</sup> 30'.

Temperatur der Taube vor der Reinjektion 38,5°. Gewicht 160 g. (Es handelt sich um eine besonders kleine, anscheinend sehr resistente Rasse.)

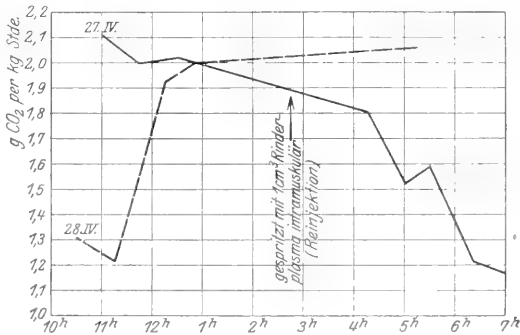


Abb. 2. Taube Nr. VI. Am 5. IV. 1922 gespritzt mit 1 ccm Rinderplasma. Am 27. IV. 1922 gespritzt mit 1 ccm Rinderplasma.

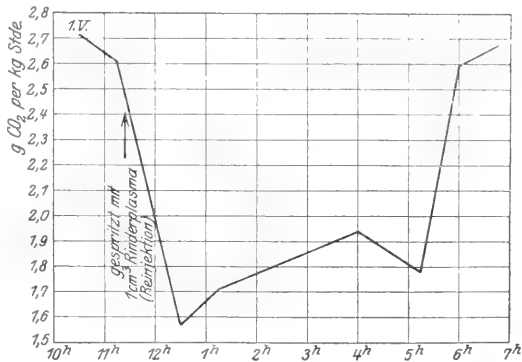


Abb. 3. Taube Nr. X. Am 6. IV. 1922 gespritzt mit 1 ccm Rinderplasma intram. Am 1. V. 1922 11<sup>h</sup> 30' gespritzt mit 1 ccm Rinderplasma intram.

Nach der Reinjektion kommt die Taube in den Gaswechselapparat.

I. Versuch 12<sup>h</sup>—12<sup>h</sup> 30'.

Die Taube scheint matt zu sein. Temperatur 12<sup>h</sup> 30' 38,5°.

II. Versuch 12<sup>h</sup> 45'—1<sup>h</sup> 15'. Temperatur 1<sup>h</sup> 15' 37,8°.

III. Versuch 3<sup>h</sup> 30'—4<sup>h</sup>. Temperatur 4<sup>h</sup>. 36,6°. Die Taube ist matt, zeigt aber sonst nichts Auffallendes.

IV. Versuch 4<sup>h</sup> 45'—5<sup>h</sup> 15'. Temperatur 5<sup>h</sup> 15' 37,3°.

V. Versuch 5<sup>h</sup> 30'—6<sup>h</sup>. Temperatur 6<sup>h</sup> 37,5°. Keine Veränderung im Verhalten der Taube.

VI. Versuch 6<sup>h</sup> 15'—6<sup>h</sup> 45'. Temperatur 6<sup>h</sup> 45' 37,5°. Die Taube ist lebhafter.

Taube Nr. VII. Weiß mit braunen Flecken. (Siehe Abb. 4).

I. Injektion von 1 cem Rinderplasma intramuskulär am 5. IV. 1922.

Am 2. V. 1922 werden die Gaswechselversuche ausgeführt.

Am 3. V. wird nach dem Vorversuch reinjiziert 10<sup>h</sup> 40' (1 cem intramuskulär).

Temp. der Taube vor der Reinjektion 40,3°; Gewicht 277 g.

Nach der Reinjektion werden erneut Gaswechselversuche ausgeführt.

I. Versuch: 10<sup>h</sup> 45'—11<sup>h</sup> 15'. Die Taube kauert sich etwas zusammen. Temperatur 11<sup>h</sup> 15' 40,3°.

II. Versuch: 11<sup>h</sup> 30'—12<sup>h</sup>. Keine Veränderung. Temperatur 12<sup>h</sup> 38,4°.

III. Versuch: 12<sup>h</sup> 20'—12<sup>h</sup> 50'. Die Taube zittert deutlich und ist matter. Temperatur 12<sup>h</sup> 50' 37,7°.

IV. Versuch: 3<sup>h</sup> 15'—3<sup>h</sup> 45'. Keine wesentliche Änderung. Temperatur 3<sup>h</sup> 45' 37,0°.

3<sup>h</sup> 45' wird das Tier zwecks Bestimmung der Gewebsatmung getötet. Die Sektion ergibt einen vollkommen normalen Befund. Die Lungen sind nicht erweitert. Die Leber ist blaß.

Taube Nr. VIII. Weiß, Kopf und Flügel grau. Zwei schwarze Streifen an den Flügeln (siehe Abb. 5).

I. Injektion von 1 cem Rinderplasma intramuskulär am 5. IV. 1922.

Am 8. V. werden die Gaswechselvorversuche ausgeführt.

Am 9. V. 9<sup>h</sup> 55' wird nach dem Vorversuch reinjiziert (1 cem intramuskulär). Temperatur der Taube vor der Reinjektion 39,8°. Gewicht 256 g.

Nach der Reinjektion wurden folgende Gaswechselversuche ausgeführt:

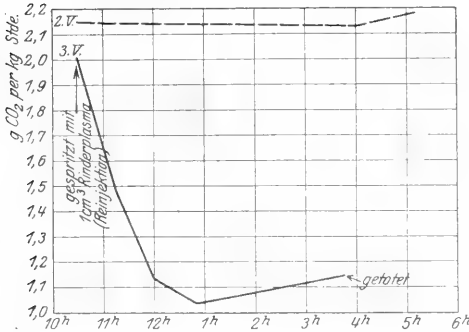


Abb. 4. Taube Nr. VII. Am 5. IV. 1922 gespritzt mit 1 cem Rinderplasma intramusk. Am 3. V. 10<sup>h</sup> 40' gespritzt mit 1 cem Rinderplasma intramusk.

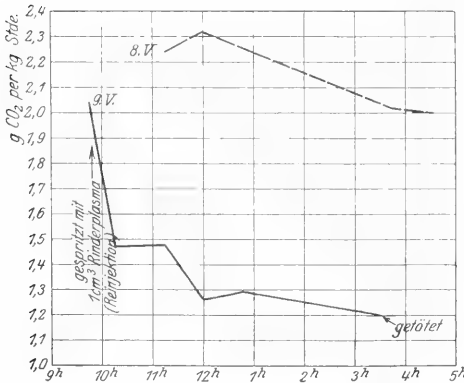


Abb. 5. Taube Nr. VIII. Am 5. IV. 1922 gespritzt mit 1 cem Rinderplasma intramusk. Am 9. V. 1922 9<sup>h</sup> 55' gespritzt mit 1 cem intramusk.

I. Versuch 10<sup>h</sup>—10<sup>h</sup> 30'. Das Tier zeigt nichts Auffallendes. Temperatur 10<sup>h</sup> 30' 39,8°.

II. Versuch 10<sup>h</sup> 45'—11<sup>h</sup> 15'. Keine Veränderungen. Temperatur 11<sup>h</sup> 15' 39,2°.

III. Versuch 11<sup>h</sup> 30'—12<sup>h</sup>. Temperatur 12<sup>h</sup> 38,8°.

IV. Versuch 12<sup>h</sup> 15'—12<sup>h</sup> 45'. Temperatur 12<sup>h</sup> 45' 38,4°.

V. Versuch 3<sup>h</sup>—3<sup>h</sup> 30'. Temperatur 3<sup>h</sup> 30' 37,8°.

3<sup>h</sup> 30' wird das Tier zur Bestimmung der Gewebsatmung getötet. Die Sektion ergibt vollkommen normale Organe.

*Taube Nr. IX.* Dunkelgrau, gesprenkelt. (Abb. 6.)

I. Injektion von 1 cm Rinderplasma intramuskulär am 6. IV. 1922.

Gaswechselversuche

am 27. u. 28. IV.

Reinjektion von 1 cm Rinderplasma intramuskulär am 1. V. 11<sup>h</sup> nach dem Gaswechselversuch.

Temperatur der Taube vor der Reinjektion 41,0°. Gewicht 284 g.

Nach der Reinjektion werden folgende Gaswechselversuche gemacht:

I. Versuch 11<sup>h</sup>—11<sup>h</sup> 30'. Keine Besonderheiten. Temperatur am Ende des Versuchs 41,0°.

II. Versuch 12<sup>h</sup>—12<sup>h</sup> 30'. Temperatur am Ende des Versuchs 40,3°. Keine Veränderungen.

III. Versuch 12<sup>h</sup> 45' bis 1<sup>h</sup> 15'. Temperatur am Ende des Versuchs 38,3°. Keine Veränderungen.

IV. Versuch 3<sup>h</sup> 30'—4<sup>h</sup>. Temperatur am Ende des Versuchs 38,6°. Die Taube ist etwas matt, zittert ab und zu.

V. Versuch 6<sup>h</sup>—6<sup>h</sup> 30'. Temperatur am Ende des Versuchs 39,8°. Die Taube macht einen ganz normalen Eindruck.

*Taube Nr. XI.* Hellgrau, schwarz gesprenkelt, weißer Ring.

I. Injektion von 1 cm Rinderplasma intramuskulär am 6. IV. 1922.

Gaswechselversuche am 10. V. 1922.

Nach weiteren Vorversuchen Reinjektion von 1 cm Rinderplasma intramuskulär am 12. V. 1922 11<sup>h</sup> 30'.

Temperatur der Taube vor der Reinjektion 41,4°. Gewicht 328 g

CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde in den Vorversuchen: 10. V. 1,955 g, 2,009 g, 2,539 g, 2,264 g, 1,950 g; 12. V. 2,066 g, 1,885 g.

Nach der Reinjektion werden folgende Gaswechselversuche ausgeführt:

I. Versuch von 12<sup>h</sup> 45 bis 12<sup>h</sup> 15'. Die Taube zittert merklich, keine Atemnot. Temperatur 12<sup>h</sup> 15' 38,8°. CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde 1,810 g.

II. Versuch von 12<sup>h</sup> 30' bis 1<sup>h</sup>. Keine Veränderungen. Temperatur 1<sup>h</sup> 38,8°. CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde 1,619 g.

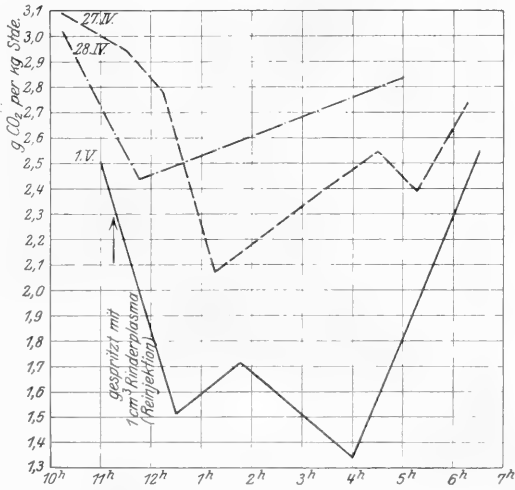


Abb. 6. Taube Nr. IX. Gespritzt am 6. IV. 1922 mit 1 cm Rinderplasma. Am 1. V. 1922 gespritzt mit 1 cm Rinderplasma.

III. Versuch von 3<sup>h</sup> 30'—4<sup>h</sup>. Die Taube wird etwas matter. Keine sonstigen auffallenden Erscheinungen. Temperatur 4<sup>h</sup> 38,1°. CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde 1,303 g.

IV. Versuch von 4<sup>h</sup> 30' bis 5<sup>h</sup>. Temperatur 5<sup>h</sup> 38,5°. CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde 1,391 g.

Die Taube wird um 5<sup>h</sup> 15' getötet zur Bestimmung der Gewebsatmung.

Die Lungen werden vollkommen normal gefunden. In der Leber finden sich mehrere scharf abgegrenzte Knötchen. Die Ursache dieser Veränderung konnte nicht festgestellt werden. Sonst war die Leber mittelgroß und nicht blutreich.

*Taube Nr. XII*, reinweiß.

Gewicht der Taube 380 g. Temperatur vor der Reinjektion 40,5°.

Nach den Vorversuchen Reinjektion am 15. V. 4<sup>h</sup> 15' (1 ccm Rinderplasma intramuskulär).

Nach der Reinjektion werden folgende Gaswechselversuche ausgeführt:

CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde in den Vorversuchen: 2,542 g, 2,280 g, 2,349 g.

I. Versuch 4<sup>h</sup> 15'—4<sup>h</sup> 45'. Die Taube zittert auffallend. Temperatur am Ende des Versuchs 39,4°. CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde: 1,676 g.

II. Versuch 5<sup>h</sup>—5<sup>h</sup> 30'. Keine Veränderung. Temperatur 5<sup>h</sup> 30' 39,4°. CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde 1,569 g.

III. Versuch 5<sup>h</sup> 45'—6<sup>h</sup> 15'. Die Taube ist matt. Temperatur 39,7°. CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde: 1,350 g.

IV. Versuch 6<sup>h</sup> 30'—7<sup>h</sup>. CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde 1,236 g.

V. Versuch am 16. V. 3<sup>h</sup> 45'—4<sup>h</sup> 15'. Die Taube ist vollkommen normal. Gewicht 390 g. Temperatur 40,8°. CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde 3,512 g.

#### Gaswechselversuche nach der Erstinjektion von Rinderplasma.

*Taube Nr. XIV*. Dunkelgrau, weiße Flügel, blauer Ring.

Gewicht des Tieres 418 g. Temperatur vor der Injektion 41,2°.

Nach den Vorversuchen am 23. u. 24. V. wird dem Tier 1 ccm Rinderplasma als Erstinjektion intramuskulär injiziert (am 24. V. 11<sup>h</sup> 15'). Danach werden folgende Gaswechselversuche ausgeführt.

I. Versuch 11<sup>h</sup> 15'—11<sup>h</sup> 45'. Das Tier zittert ein wenig. Temperatur 11<sup>h</sup> 45' 40,5°. CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde: 1,670 g.

II. Versuch 12<sup>h</sup> 15' bis 12<sup>h</sup> 45'. Nichts Besonderes. Temperatur 12<sup>h</sup> 45' 40,2°. CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde: 1,352 g.

III. Versuch 4<sup>h</sup>—4<sup>h</sup> 30'. Temperatur 4<sup>h</sup> 30' 40,3°. CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde: 1,273 g.

IV. Versuch 5<sup>h</sup>—5<sup>h</sup> 30'. Die Taube zeigt nichts Auffallendes. Temperatur 5<sup>h</sup> 30' 40,6°. CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde 1,275 g.

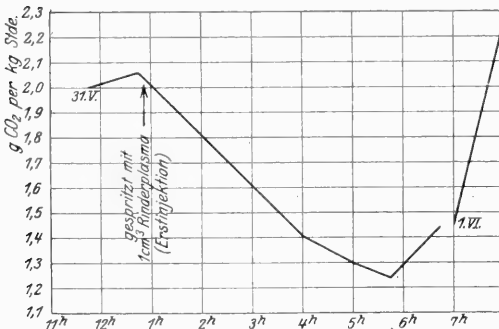


Abb. 7. Normale Taube Nr. XV. (Schwarz-grau gesprenkelt.)

CO<sub>2</sub>-Abgabe in den Vorversuchen: 1,836, 1,928, 1,827, 1,733, 1,943 g pro kg-Stunde.

*Taube Nr. XV* Dunkelgrau, gesprenkelt. (Abb. 7.)

Gewicht 280 g. Temperatur vor der Injektion 40,8°.

Nach den Vorversuchen Erstinjektion von 1 ccm Rinderplasma intramuskulär,

Danach folgende Gaswechselfersuche (31. V. 2<sup>h</sup> 30')

I. Versuch: 3<sup>h</sup> 30'—4<sup>h</sup>. Die Taube zittert. Temperatur 4<sup>h</sup> 39,7°.

II. Versuch: 4<sup>h</sup> 30'—5<sup>h</sup>. Nichts Besonderes. Temperatur 5<sup>h</sup> 39,8°.

III. Versuch: 5<sup>h</sup> 15'—5<sup>h</sup> 45'. Temperatur 5<sup>h</sup> 45' 39,9°.

IV. Versuch: 6<sup>h</sup> 15'—6<sup>h</sup> 45'. Temperatur 6<sup>h</sup> 45' 39,9°.

V. Versuch I. VI. 10<sup>h</sup> 30'—11<sup>h</sup>. Die Taube ist vollkommen normal. Gewicht 297 g. Temperatur 41,0°.

*Taube Nr. XVI.* Hellgrau, 2 schwarze Streifen auf den Flügeln.

Gewicht der Taube 345 g. Temperatur vor der Injektion 40,4°.

Nach den Vorversuchen Erstinjektion von 1 ccm Rinderplasma intramuskulär am 2. VI. 4<sup>h</sup> 30'.

Danach werden folgende Gaswechselfersuche ausgeführt:

I. Versuch 4<sup>h</sup> 30'—5<sup>h</sup>. Die Taube zeigt leichtes Zittern. Temperatur 5<sup>h</sup> 40,9°. CO<sub>2</sub>-Abgabe 1,717 g pro kg-Stunde.

II. Versuch 5<sup>h</sup> 15'—5<sup>h</sup> 45'. Die Taube zeigt nichts Besonderes. Temperatur 5<sup>h</sup> 45' 39,9°. CO<sub>2</sub>-Abgabe 1,782 g pro kg-Stunde.

III. Versuch 6<sup>h</sup>—6<sup>h</sup> 30'. Temperatur 6<sup>h</sup> 30' 39,4°. CO<sub>2</sub>-Abgabe pro kg-Stunde 1,356 g.

CO<sub>2</sub>-Abgabe in den Vorversuchen: 1,584 g, 1,649 g, 1,711 g pro kg-Stunde.

*Taube Nr. XVII.* Schwarz-weiß gefleckt. (Siehe Abb. 8.)

Gewicht der Taube 321 g.

Temperatur vor der Injektion 41,1°.

Nach den Gaswechselforversuchen am 7. u. 8. VI. Erstinjektion von 1 ccm Rinderplasma intramuskulär am 8. VI. 11<sup>h</sup>.

Danach werden folgende Gaswechselfersuche ausgeführt:

I. Versuch 12<sup>h</sup>—12<sup>h</sup> 30'. Die Taube zeigt nichts Besonderes. Temperatur 12<sup>h</sup> 30' 40,4°.

II. Versuch 3<sup>h</sup> 30'—4<sup>h</sup>. Temperatur vor dem Versuch 40,1°. Keine Veränderungen.

Um 4<sup>h</sup> wird das Tier getötet zur Bestimmung der Gewebsatmung.

Die Sektion ergibt keine besonderen Veränderungen.

Die Gewebsatmung s. S. 438.

*Kontrollversuch Taube Nr. XX.* (Siehe Abb. 9.)

Injektion von 1,0 ccm 0,9 proz. Kochsalzlösung.

Taube schwarz, grau gesprenkelt.

Gewicht der Taube 300 g. Temperatur vor der Injektion: 41,2°.

Nach den Gaswechselforversuchen am 29. u. 30. V. Injektion

von 1,0 ccm 0,9 proz. NaCl-Lösung in den Brustmuskel (am 30. V. 12<sup>h</sup> 10').

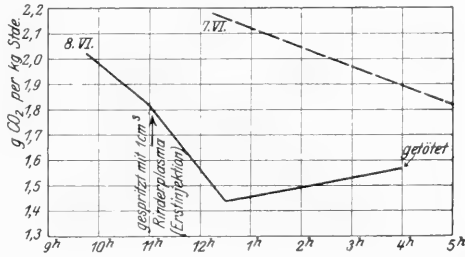


Abb. 8. Normale Taube Nr. XVII. (Schwarz-weiß gefleckt.)

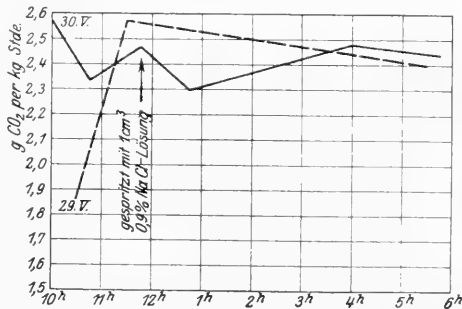


Abb. 9. Normale Taube, Gewicht 300 g. Schwarz-grau gesprenkelt.

Danach werden folgende Gaswechselversuche ausgeführt:

I. Versuch 12<sup>h</sup> 15'—12<sup>h</sup> 45'. An der Taube ist keine Veränderung wahrnehmbar; Temperatur 12<sup>h</sup> 45' 41,0°.

II. Versuch 3<sup>h</sup> 30'—4<sup>h</sup>. Keine Veränderung. Temperatur 4<sup>h</sup> 41,2°.

III. Versuch 5<sup>h</sup> 15'—5<sup>h</sup> 45'. Temperatur 5<sup>h</sup> 45' 41,1°.

*Die Gewebsatmung verschiedener Organe von Tauben, die im anaphylaktischen Schock getötet wurden.*

Die Versuchsdauer war bei allen Versuchen 30 Minuten. Als Suspensionsflüssigkeit wurde in allen Fällen 1 ccm Ringerlösung verwandt.

Taube Nr. VII (nähere Angaben im Protokoll S. 434). Temperatur während des Versuchs 22°.

Atmende Substanz	O <sub>2</sub> -Verbrauch pro g und Std. in cmm.
Leber 0,5 g	362
Brustmuskel 0,5 g	342
Herzmuskel 0,5 g	336
Gehirn 1 g	84
Gehirn 1 g	82

Taube Nr. VIII (siehe auch das Protokoll S. 434). Temperatur während des Versuchs 21°.

Leber 0,5 g	280
Brustmuskel 0,5 g	212
Herzmuskel 0,5 g	201
Gehirn 1 g	58

Taube Nr. XI (siehe das Protokoll S. 435). — Temperatur 22°.

Leber 0,5 g	302
Brustmuskel 0,5 g	242
Herzmuskel 0,5 g	316
Gehirn 1,0 g	118
Gehirn 1,0 g	126

Taube Nr. XVII getötet nach der Erstinjektion von 1,0 ccm Rinderplasma intramuskulär (siehe hierzu das Protokoll S. 437). Temperatur 22°.

Gewebsatmung:

Leber 0,5 g	402
Brustmuskel 0,5 g	436
Herzmuskel 0,5 g	394
Gehirn 1,0 g	162

Taube Nr. XIII. Dunkelgrau, gesprenkelt.

I. Injektion am 5. IV. 1922 (1 ccm intramuskulär).

Reinjektion am 6. V. 1922 9<sup>h</sup> v.

Temperatur vor der Reinjektion 41,2°. Gewicht der Taube 256 g.

Temperatur 10<sup>h</sup> 39,0°; 11<sup>h</sup> 30' 38,2°; 12<sup>h</sup> 45' 38,0°; 3<sup>h</sup> 37,8°.

Um 3<sup>h</sup> wird das Tier getötet. Die Sektion ergibt einen vollkommen normalen Befund. Die Lungen sind nicht gebläht. Keine Zeichen von Vasomotorenlähmung. Versuchstemperatur 21°.



## Gewebesatmung:

Atmende Substanz	O <sub>2</sub> -Verbrauch pro g und Std. in cmm
Leber 0,5 g	376
Muskel 0,5 g	298
Gehirn 1,0 g	128
Gehirn 1,0 g	120

Zum Vergleich seien hier die Werte angegeben, wie wir sie bei Normaltauben gefunden haben<sup>1)</sup> (Normaltaube Nr. 88).

Leber 0,5 g	374
Muskel 0,5 g	526
Herzmuskel 0,5 g	402
Gehirn 1,0 g	246

<sup>1)</sup> *Abderhalden, E. und E. Wertheimer*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **192**, 174. 1921.

# Weitere Studien über das Wesen des anaphylaktischen Schockes.

## III. Mitteilung.

### Zugleich ein Beitrag zum Studium des Wesens der alimentären Dystrophie.

Von

Emil Abderhalden und Ernst Wertheimer.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 12. Juni 1922.)

Zahlreiche Untersuchungen haben ergeben, daß Tauben, die ausschließlich mit geschliffenem Reis ernährt werden, schließlich einen Zustand zeigen, in dem eine herabgesetzte Körpertemperatur und ein verminderter Gesamt- und Gewebsgaswechsel vorhanden ist. Im Gefolge der herabgesetzten Oxydationsvorgänge in den Zellen treten dann die bekannten Symptome der alimentären Dystrophie: Krampferscheinungen usw. auf. Es konnte die verminderte Fähigkeit der Zellen, der im Stadium der alimentären Dystrophie befindlichen Tauben, Oxydationsvorgänge durchzuführen, nicht nur an direkten Gaswechselversuchen klargelegt werden, vielmehr gelang es mit Hilfe anderer Methoden, wie Herabsetzung des Sauerstoffgehaltes der Luft<sup>1)</sup> und ferner der Erhöhung ihres Kohlensäuregehaltes<sup>2)</sup> Erscheinungen hervorzurufen, die mit aller Deutlichkeit dartun, wie sehr im erwähnten Zustande der Zellstoffwechsel und insbesondere der Gaswechsel gelitten hat. Es schien uns nun von großem Interesse zu sein, *Studien über das Wesen der Anaphylaxie an Tauben durchzuführen, die längere Zeit ausschließlich mit geschliffenem Reis ernährt worden waren.* Die Fragestellung war die folgende: *Welchen Einfluß hat die im anaphylaktischen Schock auftretende Herabminderung des Zellgaswechsels auf das Befinden von Tieren, deren Gewebsgaswechsel sowieso schon geschädigt ist?*

Wir spritzten normal ernährten Tauben und solchen, die ausschließlich geschliffenen Reis erhielten, zu gleicher Zeit gleiche Mengen von Rinderplasma ein (vgl. die Einzelheiten in den auf Seite 442 mitgeteilten Protokollen). *Sämtliche Reistauben starben im Laufe des anaphylaktischen Schocks und zwar im Verlaufe eines Tages.* Akute Todesfälle haben wir nicht beobachtet. Von den Kontrolltauben starb ein Tier,

<sup>1)</sup> Abderhalden, Emil und Ernst Wertheimer, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **194**, 647. 1922.

<sup>2)</sup> Abderhalden, Emil und Ernst Wertheimer Ebenda. **195**, 460. 1922.

bei dem bei der Reinjektion Plasma intramuskulär und zugleich intraperitoneal zugeführt worden war. Die übrigen Tiere waren intraperitoneal reinjiziert worden. Alle diese Tiere blieben am Leben. Die einzige Kontrolltaube die starb, verendete 18 Stunden später als die entsprechende Reistaube. Der Tod dieser Kontrolltaube stellt eine Ausnahme dar. Alle normal ernährten Tiere überstanden sonst, wie schon erwähnt, die Reinjektion ohne weitere Folgen.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Reistauben durch die Reinjektion von Plasma viel schwerer geschädigt wurden, als die normal ernährten Tauben. Ein Unterschied ergibt sich auch bei der Betrachtung des Verhaltens der Körpertemperatur. Intraperitoneal reinjizierte normale Tauben zeigten nur geringe Temperatursenkungen. Bei den Reistauben hingegen trat ein deutlicher Temperatursturz ein (vgl. Abb. 1).

Man könnte gegen die Annahme, daß der alimentäre Zustand die stärkere Reaktion im Anschluß an die Reinjektion von Plasma bewirkt habe, einwenden, daß nicht der besondere Zustand, der im Gefolge der ausschließlichen Ernährung mit Reis auftritt, an dem erwähnten Verhalten die Schuld trage, sondern, daß vielmehr der allgemein geschwächte Zustand in Frage komme. Um dieser Möglichkeit nachzugehen, haben wir mit normaler Nahrung ernährte Tauben benutzt, die sich in einem schlechten Ernährungszustande befanden. Wir haben ferner als Kontrolltier eine Taube verwendet, die *vor* der Reinjektion 6 Tage gehungert hatte. Alle diese Tiere blieben am Leben. Das Verhalten der Körpertemperatur war wie das einer normal ernährten anaphylaktischen Taube.

Besonders interessant ist Versuch 2. Es erhielt eine anaphylaktische Reistaube Hefe. Die Erscheinungen der alimentären Dystrophie konnten damit bekämpft werden. Die Körpertemperatur stieg und die Krämpfe ließen nach. Die Taube ging trotzdem zugrunde. Offenbar waren durch die Hefezufuhr jene Erscheinungen im Zellstoffwechsel günstig beeinflußt worden, die durch das Fehlen bestimmter Stoffe in der Nahrung hervorgerufen sind; dagegen blieben jene Störungen im Zellstoffwechsel, die durch die Reinjektion von Plasma hervorgerufen waren, unbeeinflußt.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß das Studium des Verlaufes des anaphylaktischen Schocks unter verschiedenen Bedingungen berufen ist, uns noch mancherlei wertvolle Einblicke in sein ganzes Wesen und zugleich in das Wesen mancher unbekannter Störungen bei mannigfachen pathologischen Zuständen zu geben. Eine veränderte Reaktion zeigt uns die Beobachtung, daß die mit Reis gefütterten Tauben viel stärker auf die Reinjektion von artfremden Material reagieren, als normal ernährte Tauben und auch als hungernde Tauben. Wäre noch nicht bekannt gewesen, daß im Stadium der alimentären Dystrophie

die Gewebsatmung schwer geschädigt ist, so wäre man durch die vorliegenden Versuche auf diesen Umstand hingewiesen worden. Es hätte sich in umgekehrter Reihenfolge die Frage angeschlossen, aus welchem Grunde bei der Reistaube der Gaswechsel bei der Reinjektion von Plasma soviel schwerer geschädigt wird als bei einer normal ernährten Taube. Man hätte dann zwei schädigende Komponenten erkannt und ihre Summation als die Ursache des letalen Ausgangs der Reinjektion bei Reistauben festgestellt. Die verminderte Widerstandsfähigkeit von einseitig ernährten Organismen gegenüber mancherlei Eingriffen und vor allen Dingen gegenüber Infektionen muß von den eben hervorgehobenen Gesichtspunkten betrachtet werden. Es gilt dies ohne Zweifel auch für manche Erscheinungen beim Menschen. Auch hier kann eine Summation von Schädigungen, die zwar an verschiedenen Stellen eingreifen, jedoch zum gleichen Ergebnis führen, einen Grad der Störung hervorrufen, der mit dem Leben unverträglich ist, während jede einzelne Schädigung für sich keine so schwer wiegenden Folgen zu haben braucht. Wir sind überzeugt, daß der anaphylaktische Schockzustand in Zukunft noch oft verwendet werden wird, um zu prüfen, wie das Hinzukommen der in diesem vorhandenen Schädigungen zu bereits vorhandenen Störungen sich auswirkt.

### Experimenteller Teil.

Versuch I. Taube 1, dunkelgrau, roter Ring (Abb. 1).

1. Injektion von Rinderserum intramusculär am 4. III. 1922.

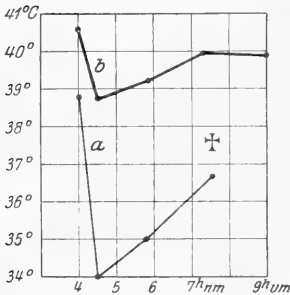


Abb. 1.

Temperaturverlauf im anaphylaktischen Schock: *a* bei einer Reistaube Nr. 1 (s. Vers. I), *b* bei der normal ernährten Kontrolltaube (intraperitoneale Reinjektion).

Temperatur 4<sup>h</sup> 35' 38,8°; 5<sup>h</sup> 45' 39,2°; 7<sup>h</sup> 15' 40,0°. Keine besonderen Erscheinungen.

Am anderen Morgen ist das Tier wie ein normales. Temperatur 39,8°.

Versuch II: Taube 2, grau, schwarz gesprenkelt.

1. Injektion von Rinderplasma intramusculär am 7. III. 1922.

Reinjektion am 23. III. (0,75 ccm intraperitoneal).

Die Taube wurde ausschließlich mit geschliffenem Reis ernährt.

Am 24. III. treten die ersten Erscheinungen der alimentären Dystrophie auf.

Das Tier ist matt. Der Gang unsicher. Die Temperatur beträgt 38,8°. Gewicht 176 g.

Um 4<sup>h</sup> Reinjektion von 1,0 ccm Rinderserum intraperitoneal.

Temperatur 4<sup>h</sup> 35' 34,0°; 5<sup>h</sup> 45' 35,0°; 7<sup>h</sup> 15' 36,7°.

Das Tier ist während der ganzen Beobachtungszeit sehr matt, zeigt aber keine auffallenden Erscheinungen. Am anderen Morgen liegt die Taube tot im Käfig.

*Kontrollversuch.* Hellgraue Taube; dunkelgesprenkelt. Gewicht 198 g (normal ernährt). Temperatur vor der Reinjektion 40,4° C.

Um 4<sup>h</sup> Reinjektion.

Die Taube wurde ausschließlich mit geschliffenem Reis ernährt. Am 22. III. ist das Tier noch munter und sitzt auf der Stange. Am 23. III. leichte Krämpfe.

Temperatur vor der Reinjektion 37,2°.

Temperatur 1 Stunde nach der Reinjektion 34,9°.

Nach 1½ Stunden 35,2°. Das Tier ist sehr matt, zeigt sonst nichts besonderes.

Nach 1¼ Stunden 34,0°. Die Taube bekommt sehr starke Krämpfe. Sie erhält 0,5 g Hefe.

Nach 5 Stunden 38,2°. Die Krämpfe haben nachgelassen. Das Tier ist matt. — Es erhält intramusculär 1,0 ccm Hefeautolysat.

Am anderen Morgen liegt die Taube tot im Käfig.

Die Sektion ergibt nichts besonderes.

Versuch II Kontrolltaube (normal ernährt).

Dunkelgrauschwarze Taube. Gewicht 252 g.

Temperatur vor der Reinjektion am 23. III. 41,2°.

Temperatur 1 Stunde nach der Reinjektion 39,8°, nach 1½ Stunden 39,6°, nach 2 Stunden 39,5°, nach 5 Stunden 40,0°.

An der Taube ist nichts Auffallendes zu bemerken.

Am anderen Morgen 9<sup>h</sup> ist die Temperatur 40,6°.

Versuch III. Taube 3, schwarz, kleine graue Flecke auf den Flügeln.

1. Injektion von Rinderplasma intramusculär am 4. III.

Die Taube wird ausschließlich mit geschliffenem Reis ernährt.

Am 22. III. zeigt die Taube bereits starke Mattigkeit, sie schwankt beim Gehen.

Das Gewicht beträgt 223 g, die Temperatur 37,5°.

Nachmittags 5<sup>h</sup> Reinjektion von 1 ccm Rinderplasma intraperitoneal.

5<sup>h</sup> 10' Temperatur 35,2°; 5<sup>h</sup> 20' Temperatur 34,3°; 5<sup>h</sup> 30' Temperatur 33,2°; 5<sup>h</sup> 45' Temperatur 32,5°; 6<sup>h</sup> Temperatur 32,4°; 7<sup>h</sup> Temperatur 31,3°.

Am anderen Morgen war die Temperatur auf 36,3° gestiegen.

Im Laufe des Nachmittags starb das Tier.

Kontrolltaube zu Versuch III. Dunkelgrau.

Temperatur vor der Reinjektion um 5<sup>h</sup> 40,9°. Gewicht 220 g.

Temperatur 5<sup>h</sup> 30' 40,0°; 6<sup>h</sup> 38,4°; 7<sup>h</sup> 38,6°.

Am anderen Morgen war die Temperatur wieder normal 40,5°.

Versuch IV. Taube 4 grau-schwarz, weiße Flecke. Die Taube wird ausschließlich mit geschliffenem Reis ernährt.

1. Injektion von Rinderplasma intramusculär am 4. III.

Am 25. III. treten deutliche Zeichen der alimentären Dystrophie auf. Die Taube ist matt, das Gefieder aufgeplustert, der Gang unsicher.

Das Gewicht der Taube ist 268 g. Die Temperatur beträgt am 25. III. morgens 37,3° (am 24. III. 39,8°).

Um 11<sup>h</sup> Reinjektion intraperitoneal und intramusculär je 1 ccm.

Die Temperatur um 11<sup>h</sup> 10' beträgt 37,3°; um 12<sup>h</sup> 36,5°; um 1<sup>h</sup> 36,0°; um 1<sup>h</sup> 30' 35,5°.

Um 3<sup>h</sup> mittags liegt das Tier tot im Käfig.

Die Sektion ergibt nichts Besondres.

Kontrolltaube: Gewicht 246 g. Temperatur 41,1°.

Um 11<sup>h</sup> Reinjektion intraperitoneal und intramusculär je 1 ccm.

Um 11<sup>h</sup> 10' ist die Temperatur 39,6°; um 12<sup>h</sup> 38,5°; um 1<sup>h</sup> 36,6°; um 3<sup>h</sup> 36,5°.

Um 6<sup>h</sup> abends ist die Taube matt, sie ist in Hockstellung gegangen. Temperatur 36,5°.

Am anderen Morgen um 10<sup>h</sup> liegt die Taube tot im Käfig. Leber und Lunge sind normal.

# Die Vitalfärbung von *Opalina ranarum* mit Säurefarbstoffen und ihre Beeinflussung durch Narkoticum.

Von  
Wilhelm Hertz.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Kiel.)

(Eingegangen am 20. Mai 1922).

*Einleitung.* Bei den Untersuchungen über die Färbbarkeit lebender Zellen haben besonders die Ergebnisse mit Säurefarbstoffen Schwierigkeiten für die Deutung bereitet. Während sich fast alle tierischen und pflanzlichen Zellen mit basischen Farbstoffen ohne weiteres in kurzer Zeit anfärben, gibt es nur eine beschränkte Zahl von Zellarten, welche die meisten Säurefarbstoffe in sichtbarer Menge aufnehmen. Es ist nun sowohl für die Theorie der Vitalfärbung, als auch insbesondere für die Theorie der Zellpermeabilität von höchstem Interesse, dafür eine Erklärung zu geben. Nach der Auffassung von *Overton* und *Höber* ist die beschränkte Anfärbbarkeit mit der Mehrzahl der Säurefarbstoffe Ausdruck einer „physiologischen Permeabilität“, d. h. einer Anpassung an besondere Aufnahmebedürfnisse, die sich unter den tierischen Zellen bei gewissen Epithelien der Nieren, bei phagocytierenden Zellen, wie den *Goldmannschen* „Pyrrolzellen“ des Bindegewebes, den *Kupfferschen* Sternzellen der Leber sowie anderen Retikuloendothelialzellen in der Milz, dem Knochenmark und anderen Organen eben in der Aufnahme der Säurefarbstoffe, und zwar in einer *aktiven* Aufnahme äußert; nach den neuesten sorgfältigen Untersuchungen von *Collander*<sup>1)</sup> an Pflanzenzellen ist auch da offenbar die Fähigkeit zu dieser Art Vitalfärbung bei gewissen Zellen, wie Blumenblattzellen, jugendlichen halb embryonalen Zellen und Zellen, die in unmittelbarer Nachbarschaft der Leitbündel liegen, vorhanden, während andere Zellen, wofern sie nur unverseht sind, ungefärbt bleiben. — Einen abweichenden Standpunkt nehmen *Ruhland*, *Bethe* und *von Möllendorff* ein; sie sind der Ansicht, daß die tierischen und pflanzlichen Zellen generell auch für die Säurefarbstoffe *passiv* durchlässig sind, daß also die Anfärbung in jedem Fall die Folge nicht einer physiologischen, sondern einer „physikalischen

<sup>1)</sup> *Collander*, Jahrb. f. wiss. Bot. 60, 354. 1921.

Permeabilität“ im Sinne *Höbers* sei, daß aber das Eindringen der Farbe immer nur dann sichtbar werde, wenn irgendwie eine Farbspeicherung stattfindet. Das Speicherungsvermögen der Zellen ist aber verschieden und hängt nach *Bethe* von ihrer Innenreaktion ab; wie Gelatinegallerte und Eiweißsole sich nur dann stark mit Säurefarbstoffen anfärben, wenn sie selber angesäuert werden, während Alkalisierung die Säurefarbstoffe fernhält, so soll auch nur ein saurer Zellinhalt zu reichlicher Aufnahme von Säurefarbstoff prädisponieren, während neutrale oder gar alkalische Reaktion das Gegenteil bewirkt. *Bethe*<sup>1)</sup> hat für seine Theorie zahlreiche eigene Beobachtungen und solche von Schülern ins Feld geführt; *Nirenstein*<sup>2)</sup> und *Collander* haben Versuche mitgeteilt, die teils eine andere Deutung für den Einfluß der Reaktion auf die Anfärbung, als *Bethe* sie gibt, zulassen, und die teils den Anschauungen von *Bethe* widersprechen. Doch kann auf das Für und Wider hier nicht eingegangen werden. Wohl aber soll zu der Frage der Vitalfärbung mit Säurefarbstoffen von neuem durch Versuche Stellung genommen werden, die an *Opalina ranarum*, dem im Froschendarm parasitierenden Infusor, angestellt wurden. *Kozawa*<sup>3)</sup> und *Rohde*<sup>4)</sup> haben nämlich mitgeteilt, daß die lebenden Opalinen sich mit zahlreichen Säurefarbstoffen wundervoll durchfärben, wenn man die Farbstoffe an die Frösche verfüttert. Dies ist nach dem, was vorher über das beschränkte Vorkommen einer Durchfärbung mit Säurefarbstoffen gesagt wurde, an sich sehr interessant, zumal da diese Infusorien kein Cytostoma besitzen, so daß die Tatsache ihrer Anfärbung das Permeabilitätsproblem von neuem aufrollt. Dazu kommt, daß die Opalinen zwar außerhalb des Darmes noch mit Sicherheit im Darminhalt angefärbt werden können, aber in Ringerlösung die Farbe nicht oder höchstens nach längerer Zeit aufnehmen. Da die Bedingungen für diese Unterschiede bisher nicht genauer durchforscht sind, so habe ich dies auf Veranlassung von Prof. *Höber* genauer zu präzisieren versucht; zugleich erhielt ich die Aufgabe, durch Untersuchung des Einflusses der Narkose auf die Färbung mit basischen und mit Säurefarbstoffen eine deutliche Unterscheidung von physikalischer und physiologischer Permeabilität anzustreben.

*Zur Methodik.* Bei den folgenden Versuchen wurde vor allem darauf geachtet, daß die Eigenbewegung der Opalinen nicht wesentlich beeinträchtigt wurde und die Tiere ein normales Aussehen behielten. Vor Versuchen mit Farblösungen

<sup>1)</sup> *Bethe*, Wien. med. Wochenschr. 1916, Nr. 14; Kolloidzeitschr. **27**, 16. 1920; Biochem. Zeitschr. **127**, 18. 1922; *Rohde*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **182**, 114. 1920 u. **168**, 411. 1917; *Pohle*, Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 48.

<sup>2)</sup> *Nirenstein*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **179**, 233. 1920.

<sup>3)</sup> *Höber*, Biochem. Zeitschr. **67**, 420. 1914 nach Versuchen von *Kozawa*.

<sup>4)</sup> *Rohde*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **168**, 411. 1917.

wurde stets untersucht, inwieweit die beabsichtigten Beimengungen zu den Lösungen auf die Infusorien schädigend einwirkten oder nicht. Um einwandfreie Resultate zu erhalten, übertrug ich die Opalinen nicht direkt mit der Platinöse aus dem Darm in die Farblösung, sondern erst in ein Schälchen mit reiner Ringerlösung, woraus ich sie dann mit einer feinen Capillare in die endgültige Lösung brachte. So wurden unbeabsichtigte Verunreinigungen aus dem Darm möglichst ausgeschaltet. Ferner stellte ich die Farbschälchen im dunklen, kühlen Zimmer auf, um möglichst dieselben äußeren Bedingungen zu schaffen, wie sie die Infusorien im Froschdarm gewohnt sind.

*Der Einfluß saurer Lösungen auf die Vitalfärbung der Opalinen mit Sulfosäurefarbstoffen.*

Schon *Bethes* Schüler *Rohde* hat den Versuch gemacht, im Sinne von *Bethes* Speicherungstheorie die Opalinen zur stärkeren Aufnahme von Säurefarbstoffen durch Ansäuern ihres Mediums zu veranlassen. Er gibt darüber an, daß die Opalinen sich in einem Acetatgemisch von  $c_{\text{H}} = 10^{-4,74}$ , soweit sie am Leben bleiben, nach längerer Zeit, aber nicht regelmäßig anfärben, während sie in Leitungswasser oder Ringerlösung ungefärbt bleiben. Ich stellte entsprechende Versuche mit sauren Acetat- und Phosphatgemischen<sup>1)</sup> an. Aber schon die Vorversuche ohne Farbstoff ergaben eine recht ungünstige Wirkung der 1/10 Mol. Acetatgemische. Bei  $c_{\text{H}} = 0,11 \times 10^{-5}$  wird die normale Beweglichkeit sehr schnell gehemmt, nach 5 Min. bleibt nur ein schwaches Flimmern, das nach 20 Min. aufhört. Die Tiere zeigen dann ein dunkles Plasma. Bei  $c_{\text{H}} = 0,28 \times 10^{-6}$  halten sich die Infusorien bis 7 Std. ganz gut. Auch mit Ringerlösung auf 1/100 mol. verdünnte Acetatgemische wirken schnell schädigend. Phosphatgemische sind weniger ungünstig für die Tiere. Bei  $c_{\text{H}} = 10^{-4,588}$  bleiben einige noch 10–15 Min. ziemlich normal bewegt. Nach einer Stunde sind sie zum Teil schon vollkommen zerstört, nach zwei Stunden alle. Färbungen an einigermaßen normalen Tieren in nicht zu stark schädigenden Acetat- oder Phosphatgemischen<sup>2)</sup> wurden nicht beobachtet trotz Verwendung von Farbstoffkonzentrationen von 0,1–0,5% (Cyanol, Lichtgrün F. S. und Benzoblau) und einer Versuchsdauer bis zu 24 Stunden.

*Der Einfluß bestimmter organischer Substanzen auf die Vitalfärbung der Opalinen mit Sulfosäurefarbstoffen.*

Bei Wiederholung der *Kozawa*schen Versuche zeigte sich, daß sich Opalinen sowohl in einem mit 1proz. Farblösung abgebundenen isolierten Froschdarm als auch bei Zusatz von Darminhalt zu 1proz. Farblösungen in 8–24 Stunden sehr gut färben. Für erstere Versuche

1) *Kozawa*, Biochem. Zeitschr. **60**, 146. 1914.

2)  $c_{\text{H}} = 10^{-4,949}$



wurde dies mit Cyanol, Lichtgrün F. S., Benzoreinblau, Benzoblau und Trypanblau erwiesen, für letztere mit Lichtgrün, Cyanol und Benzoblau. All diese Farbstoffe sind solche, die in keinerlei Weise „lipoidlöslich“ sind, d. h. sich aus wässriger Lösung weder auf Cholesterin- oder Lecithinlösungen in organischen Lösungsmitteln noch auf das *Nirensteinsche* Gemisch von Diamylamin, Ölsäure und Öl verteilen, und die ferner nicht generell, sondern nur speziell die in der Einleitung genannten Zellsorten färben. — Die Kontrolltiere in einfacher Ringerlösung waren ungefärbt, aber sie hatten meist ihre Eigenbewegung eingebüßt. Nur das Flimmern der Cilien war geblieben, öfter waren sie auch ganz zerstört und stark gefärbt. Auf diese Wirkung der *reinen* Ringerlösung komme ich weiter unten noch ausführlich zu sprechen.

Bei weiteren Versuchen zeigte sich nun, daß auch durch Einlegen von Stückchen gereinigten Dickdarms, von Dünndarm, Leber und Niere (vom Frosch) in die Farblösungen sehr gute Färbungen eintraten bei vollkommen normalem Verhalten der Tiere. Auch in einem filtrierten Auszug der Froschleber wurden die gleichen guten Resultate erzielt. Ich ging dann zu künstlich gereinigten organischen Substanzen über, zu Pepton (Präparat *Witte*), Pepsin (*Witte*), Trypsin und Albumin<sup>1</sup>). Diese Substanzen wurden in Konzentrationen von  $\frac{1}{2}$ —1 $\frac{0}{0}$  in der endgültigen Farblösung verwendet und die Farbstoffe Cyanol und Benzoblau ( $\frac{1}{2}$  $\frac{0}{0}$ ) benutzt. Ferner blieb die Salzkonzentration bei den Versuchen stets die gleiche. Nach der angegebenen Zeit in farblose Ringerlösung übertragen, schwammen die Tierchen wieder wunderbar schön gefärbt und lebhaft herum. Auch die Vorversuche in farblosen Lösungen ergaben eine gute Haltbarkeit der Opalinen bei Anwesenheit dieser organischen Zusätze. In einer 1proz. Peptonlösung hielten sich die Infusorien fast 10 Tage recht gut, in einer  $\frac{1}{2}$ proz. Trypsinlösung 4 Tage sehr gut. Prüfung der organischen Lösungen mit Methylrot und Neutralrot ergab ziemlich neutrale Reaktion. Methylrot blieb immer gelb; keinesfalls überstieg also die H-Ionenkonzentration  $10^{-6}$ .

Bei der Verwendung von Pepsin- und Trypsinpräparaten konnte der Gedanke naheliegen, daß es sich hier vielleicht um eine „Anverdauung“ der Tiere handeln könnte, und daß diese vielleicht auch im Froschdarm stattfindet. Dieses ist aber nicht der Fall. Sowohl aufgekochter Darminhalt, als 5 Min. stark gekochte Pepsin- und Trypsinlösung, wie auch Pepton und filtrierter Leberauszug ändern nichts an den Färbeergebnissen. Unter den Körpern, bei deren Anwesenheit

<sup>1</sup>) Das durch Ammonsulfat-Fällung aus Serum gewonnene Albumin muß durch Dialyse völlig von dem Salz befreit werden, da schon kleine Mengen davon auf Opalinen schädlich wirken und die Färbung verhindern.

Vitalfärbung der Opalinen mit Cyanol usw. eintritt, befinden sich also auch kochbeständige<sup>1)</sup>.

Bei den Kontrolltieren in reiner Ringerlösung machte sich wieder z. T. eine schlechte Haltbarkeit in den 24 Std. der Versuchsdauer geltend, wie oben schon erwähnt wurde. Sehr oft war die Eigenbewegung stark herabgesetzt, z. T. nur starker Flimmerschlag vorhanden. Auch in farbloser Lösung und bei Verwendung von doppelt destilliertem Wasser kamen diese Fälle vor. Dabei waren die Tiere in den farbigen Kontrollösungen stets ganz hell und ungefärbt.

Diese Tatsachen führten zu einer näheren Untersuchung über die Wirkung der Ringerlösung auf die Opalinen. Die Zusammensetzung meiner Ringerlösung war 0,65% NaCl, 0,014% KCl, 0,012% CaCl<sub>2</sub> und 0,01% NaHCO<sub>3</sub>. Das Bicarbonat kann ohne Veränderung der Versuchsergebnisse fortgelassen werden. „Wäscht“ man nun Opalinen in Ringerlösung, indem man sie aus dem ersten Schälchen in ein weiteres gleiches überträgt, so daß Verunreinigungen immer mehr ausgeschlossen werden, so zeigt sich meist schon bei der zweiten und dritten Übertragung, daß einige Tiere die Bewegung einstellen und stark flimmernd am Boden des Schälchens „kleben“, so daß man sie kaum mit der Capillare fortnehmen kann. Läßt man eine solche 4. Übertragung in reine Ringerlösung 12 Std. stehen, so sind nach dieser Zeit die Opalinen z. T. tot und cytolysiert, z. T. ohne jeden Flimmerschlag, dabei hell und feinblasig im Innern, z. T. zeigen sie langsame Eigenbewegung, sind aber sehr dunkel und groß-granuliert. Bringt man solche Tiere in Neutralrotlösung (0,001%), so färben sich besonders diese bräunlichen „Granula“, während die schmalen Zwischenräume nur schwach gefärbt erscheinen. Kontrolltiere in einer Lösung mit Organauszug, die auch zu gleicher Zeit in Neutralrotlösung gebracht werden, zeigen stärkere Diffusfärbung mit nicht so vielen und so stark hervortretenden Granulis. Die diffuse Plasmafärbung zeigt etwas schwächeren roten Farbton als die Granula. In anderen Fällen vertragen die Opalinen das „Waschen“ sehr viel besser, sind nach 12 Std. noch hell und normal beweglich, zeigen aber nach längerem Verweilen in Neutralrot auch jene merkwürdige stärkere Granulafärbung<sup>2)</sup>.

Setzt man aber einer Ringerlösung *eine Spur* Verunreinigung aus dem Darminhalt zu, so steigt die Haltbarkeit der Opalinen sehr stark, ohne daß in einer solchen Lösung mit  $\frac{1}{2}\%$  Cyanol oder Benzoblau schon Färbung auftritt. Daher wurden fernerhin die Kontrollösungen in dieser Weise angesetzt und erheblich bessere Resultate erzielt. Sobald man aber *stärkere* Verunreinigungen aus dem Darmzusatz, so treten schwache Färbungen mit den Säurefarbstoffen auf.

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß entsprechende Färbungsversuche negativ verliefen bei Zusatz von Traubenzucker, Gly-

1) Die Trypsinwirkung ist vielleicht nur auf das Eiweiß zu beziehen, das dem benutzten Präparat anhaftete.

2) Jedenfalls ist die Resistenz der verschiedenen Opalinengenerationen aus den verschiedenen Froschdärmen nicht gleich, wie auch Form und Größe der Tiere stark wechselt.

kogen, Lecithin (*Merck*, puriss.) und auch Pferde- und Rinderserum, für die *Kozawa*<sup>1)</sup> positive Resultate angibt.

In reiner isotoner Traubenzuckerlösung hört die Eigenbewegung der Opalinen schon nach einer  $\frac{1}{2}$  bis  $\frac{3}{4}$  Std. auf; ihre Form bleibt normal. Nach dieser Zeit in Ringerlösung zurückgebrachte Tiere leben wieder einigermaßen auf, nicht mehr nach  $1\frac{1}{2}$  Std. Nach 4 Std. ist völliger Verfall der Infusorien eingetreten. Zusatz von 0,1 cem Ringer zu 0,9 cem isotoner Traubenzuckerlösung steigert die Haltbarkeit stark. Farbversuche in solchen u. a. Lösungen verliefen negativ, ebenso in 0,75proz. Glykogen- und Stärkelösung oder 0,0008proz. Lecithin-Emulsion, trotzdem die Tierchen noch unbeeinträchtigt und hell herumschwimmen. Aktives Rinder- oder Pferdeserum auf die richtige Salzkonzentration mit Wasser verdünnt wirkt schnell tödlich. Nach 5 Min. hört die Eigenbewegung auf. Man sieht, wie sich kleine Gerinnsel auf den Cilien niederschlagen und sie einbetten. Nach 1 Std. sind alle Opalinen zerstört. Inaktiviert man aber das Serum durch halbstündiges Erwärmen auf 56°, so fällt diese starke Schädigung fort. Trotzdem bekam ich nur einmal eine unregelmäßige Färbung.

Zur Erklärung der Erscheinungen blieb noch zu untersuchen, ob sich die Zellinnenreaktion unabhängig von der äußeren bei Nahrungsaufnahme nach der saueren Seite hin verändert, so wie *E. Nirenstein*<sup>2)</sup> dies an den Nahrungsvakuolen von *Paramecium caudatum* beobachtet hat. Um einen etwa vorhandenen Zusammenhang hiermit und der Färbung mit den fraglichen Säurefarbstoffen festzustellen, wurden Opalinen aus demselben Froschdarm einerseits in 0,5proz. Cyanolösungen mit und ohne Leberauszug, andererseits in ebensolche farblose Lösungen gebracht. Nach 12—14 Std. waren die Infusorien in der Cyanol-Organextraktlösung wieder tadellos gefärbt, dagegen in der Kontrollösung absolut ungefärbt. Die Opalinen in den farblosen Lösungen wurden nun auf ihre Innenreaktion mit Neutralrot geprüft<sup>3)</sup>. Es konnte absolut kein Unterschied in der Farbtonung festgestellt werden. Also wird auch keine stärkere H-Ionenkonzentration im Zellinneren an ihrer Färbbarkeit schuld sein.

Betrachten wir die bisher angeführten Versuche, so müssen wir sagen, daß sichere positive Schlüsse daraus noch nicht gezogen werden können. Ziemlich gesichert scheint die negative Feststellung, daß eine stärkere H-Ionenkonzentration für die gute Opalinenfärbung mit jenen Säurefarbstoffen nicht verantwortlich gemacht werden kann. Auch wenn man annehmen wollte, daß beim Verweilen in Lösungen mit Organzusatz nur zeitweise die Zellinnenreaktion sauer sei, so wie in der Nahrungsvakuole von *Paramecium*<sup>4)</sup>, so müßte doch der gespeicherte Farbstoff beim Umschlagen der Reaktion in neutral bis

<sup>1)</sup> *Höber*, Biochem. Zeitschr. **60**, 146. 1914.

<sup>2)</sup> *Nirenstein*, *E.*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **179**, 298. 1920.

<sup>3)</sup> Vgl. auch die *Rohdes*chen Angaben über die Zell-Innenreaktion der Opalinen.

<sup>4)</sup> *Nirenstein*, *E.*, 1920.

schwach alkalisch nach der *Betheschen* Ansicht wieder abgegeben werden, wenn die Zellpermeabilität keine Rolle spielte. Im Gegenteil wird aber der Farbstoff (z. B. Benzoblau) ziemlich lange von Opalinen festgehalten, die nach Übertragung in farblose Ringerlösung noch weitere 24 Std. beobachtet wurden.

Weiterhin kann nur die starke Vermutung geäußert werden, daß es sich bei der Anfärbung mit den genannten Säurefarbstoffen um einen aktiven Vorgang von Seiten der Opalinen handelt, der mit der Nahrungsaufnahme der Tiere zusammenhängt. Es sei nochmals daran erinnert, daß die Opalinen kein Stoma besitzen und die Nahrungsstoffe also wohl durch die ganze Oberfläche aufnehmen müssen. Aufnahme sichtbarer Partikel beobachtete ich nicht<sup>1)</sup>. Als Nahrungsstoffe kommen sehr wahrscheinlich Eiweiß oder eiweißähnliche Stoffe in Betracht. Jedenfalls können auch Eiweißbruchstücke in Frage kommen, die nicht durch Hitze koagulierbar sind. Intensive Nahrungsaufnahme tritt wahrscheinlich nur bei stärkerem Angebot an Nahrungsstoffen ein, so wie es die Infusorien im Froschdarm gewohnt sein mögen. In sehr schwach mit Darminhalt verunreinigter farbiger Ringerlösung findet auch wahrscheinlich keine stärkere Nahrungsaufnahme statt, so daß auch keine Färbungen auftreten. Absolut reine Ringerlösung scheint kein günstiges Medium für diese parasitierenden Infusorien zu sein.

Es ist denkbar, daß eine Änderung der einzelnen Salzkonzentrationen eine Besserung in der Haltbarkeit der Opalinen hervorruft. Die teilweise granuläre Bräunung nach 12 Std. wäre vielleicht als eine teilweise Kolloidfällung durch die Salze der Lösung anzusehen<sup>2)</sup>. Es ist auch nicht ausgeschlossen, daß durch die reine Salzlösung und gar durch das „Waschen“ in dieser Bestandteile der Plasmahaut fortgespült<sup>3)</sup> werden, wodurch die Zellpermeabilität verändert würde und die Salze, wenn auch langsam, ins Zellinnere dringen könnten, um dort jene Fällungen hervorzurufen. Jedoch sind dieses nur Vermutungen, ohne daß diese Erscheinung noch weiter verfolgt ist.

#### *Einfluß der Narkose auf die Vitalfärbung mit den Säurefarbstoffen.*

Der Einfluß von Narkoticum auf die Vitalfärbung mit Säurefarbstoffen ist bisher nur von *Collander* (s. o.) an den Kelchblättern von *Hyacinthus* beiläufig untersucht worden. Für tierische Zellen sind bisher

<sup>1)</sup> Merkwürdig ist, daß bei sehr guten Vitalfärbungen mit Cyanol usw. sehr oft das Vorderende der Tiere fast ungefärbt bleibt, besonders bei den langen Opalinen aus *R. esculenta*. Bei schwachen Anfärbungen ist zuerst meist das Hinterende gefärbt. Vielleicht besteht ein Zusammenhang hiermit und der Beobachtung, daß am Hinterende der Tiere meist eine cilienfreie Stelle sichtbar ist, mit der sich die Opalinen oft aneinander oder an Partikeln festsetzen. Bei basischen Farbstoffen wurde solche verschieden starke Färbung an ein und demselben Tiere nicht beobachtet.

<sup>2)</sup> Vgl. *Spek*, *Acta Zoologica* 1921, S. 191.

<sup>3)</sup> Vgl. die Beobachtungen über Hypodynamie beim Herzen; ferner *Brinkman* und *van Dam*, *Biochem. Zeitschr.* 108, 35. 1920.

keine diesbezüglichen Angaben bekannt. Auf Veranlassung von Prof. Höber versuchte ich nun, die Färbung der Opalinen im isolierten, mit Farblösung gefüllten Froschdarm durch Narkoticum zu beeinflussen.

Als Narkoticum benutzte ich Propyl- und Isobutylurethan. Die brauchbare Konzentration für Isobutylurethan ergab sich zu 0,05 bis 0,03 Mol., für Propylurethan 0,14—0,08 Mol. Die Versuche zur Auffindung dieser Konzentrationen wurden aus praktischen Gründen nicht in reiner Ringerlösung, sondern unter Zusatz von filtriertem Leberauszug angesetzt. Insofern haben die Angaben also keinen absoluten, sondern nur praktischen Wert.

Unter diesen Umständen stellen die Infusorien z. B. bei 0,14 Mol. Propylurethan innerhalb 4—6 Std. ihre Eigenbewegung ein. Es geschieht dieses langsam; die Bewegung wird immer schwächer, bis nur noch ein lebhaftes, bei längerer Narkose allmählich ermüdendes Flimmern der Tierchen übrig bleibt. Ihr Aussehen ist trotzdem ganz normal. In diesem Zustand des Flimmerns bleiben die Infusorien 8 bis 11 Std. ungeschädigt. Nach Verweilen von 12—15 Std. in einer Narkoticumlösung kehrt also die Eigenbewegung der Opalinen bei Übertragung in einfache Ringerlösung mit etwas Leberauszug bald zurück. Oft sind sie schon innerhalb 5—10 Min. wieder normal bewegt, in anderen Fällen dauert es  $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$  Std. Narkotisiert man auch noch das Flimmern fort, so ist die Narkose nach längerer Zeit nicht mehr reversibel.

Für den Hauptversuch wurde nur die Hälfte eines Froschendarmes mit 1proz. Benzoblaulösung gefüllt und gut abgebunden in einen verschlossenen Kolben mit 40 ccm Narkoticum-Ringerlösung eingehängt. Benzoblau hatte sich als praktisch erwiesen, da es nicht so diffusibel ist, daß es die Darmwand passieren könnte, andererseits aber sehr schöne Färbungen der Infusorien abgibt<sup>1)</sup>. Die andere Hälfte des Darmes wurde mit Opalinen aus demselben Frosch in ein Schälchen mit etwas 1proz. Benzoblau-Ringerlösung gelegt. Nach 9—10 Std. waren diese Infusorien wie immer sehr schön gefärbt und lebendig, die narkotisierten Opalinen dagegen *vollkommen ungefärbt*. Sie wurden aus dem Darm erst in farblose Narkoticumlösung derselben Konzentration übertragen, um den Grad der Narkose festzustellen. Es zeigte sich stets ein sehr schönes Bild: der ganze Haufen gut normal aussehender Tierchen trotz kräftigen Flimmerschlages ganz unbewegt. Die Eigenbewegung kehrte dann nach wenigen Minuten normal zurück, wenn die Infusorien, wie beschrieben, in narkoticumfreie Lösung gebracht wurden. Öftere Wiederholungen des Versuches ergaben dasselbe Resultat.

<sup>1)</sup> Bei sehr vorsichtiger Behandlung und frischem Material bleibt der Darm auch in Narkoticumlösung 12 Std. vollkommen dicht für den Farbstoff.

Natürlich ging mein Bestreben nun dahin, diese Versuche auch außerhalb des Darmes auszuführen, da dann auch Versuche mit diffusiblen Farbstoffen, wie Cyanol, ausführbar waren. Die Versuchsanordnung ergibt sich aus dem vorigen: es wurden  $\frac{1}{2}$ proz. Cyanol- oder Benzoblaulösungen unter Zusatz von filtriertem Leberauszug und Propylurethan (0,14—0,08 Mol.) angesetzt. Salzkonzentration und Menge des zugesetzten Organauszuges war stets gleich gehalten mit der narkoticumfreien Kontrollösung. Nach 13—15 Std. zeigten sich dieselben verblüffend guten Ergebnisse auch mit dem diffusiblen Cyanol, wie sie eben für die Versuche im isolierten Froschdarm mitgeteilt wurden. Bei den niedrigen Propylurethankonzentrationen (0,1 bis 0,08 Mol.) war die Eigenbewegung oft noch schwach erhalten, eine Anfärbung aber meist absolut nicht vorhanden oder nur minimal, während in 0,14—0,12 Mol. Narkoticumlösungen niemals eine Färbung zu sehen war. Erwähnt sei, daß öfters vereinzelte fleckenweise oder stark angefärbte Tiere vorkommen, die sich aber stets als geschädigt herausstellen, z. T. vakuolisiert sind und niemals Reversibilität der Narkose zeigen.

Daß endlich Färbung oder Nichtfärbung wirklich von dem Narkosegrad der Opalinen und nicht von irgendwelchen anderen Umständen abhängen, zeigten mir deutlich zwei Fälle. Nicht alle Opalinen sind, besonders bei den niederen Narkoticumkonzentrationen, gleich schnell und gleich stark beeinflusst. So zeigte sich einmal bei einer Narkose im Darm (0,1 Mol. Propylurethan) und einmal außerhalb desselben (0,08 Mol.) eine Opaline, die nach 9 Std. noch recht lebhaft und sehr gut gefärbt in der farblosen Narkoticumlösung, in die ich sie übertragen hatte, herumschwamm, während alle übrigen Tierchen nur sehr langsam oder gar nicht bewegt und ganz *ungefärbt* waren.

Sehr verlockend war es nun im Hinblick auf die Ergebnisse *E. Nirensteins* an Paramaecien, *die Färbbarkeit der Opalinen mit diamylaminlöslichen Säurefarbstoffen* und ihre Beeinflussung durch Narkotica zu untersuchen. Es gibt nämlich eine verhältnismäßig geringe Anzahl von Säurefarbstoffen, die in ähnlicher Weise „lipoidlöslich“ sind, wie die basischen Farbstoffe, und diese selben Säurefarbstoffe sind im Gegensatz zu den übrigen anscheinend gerade so zur generellen Färbung tierischer Zellen geeignet, wie die basischen Farbstoffe, wie wohl aus *Nirensteins* Gegenüberstellung der relativen Löslichkeit in seinem oben schon einmal erwähnten Gemisch aus Öl, Ölsäure und Diamylamin und ihrer Fähigkeit zur Vitalfärbung hervorgeht. Die Färbung mit diesen Säurefarbstoffen wäre natürlich als ein rein passiver Vorgang aufzufassen. Ich verwendete Tuchscharlach G, Tuchrot 3 G A und Tropaeolin 000/2 (*Merck*).

Farbstoff	Konzentration in %	Färbung nach Stunden	Grad der Färbung
Tuchscharlach G	0,005	$\frac{3}{4}$ —1	gut
Tuchrot 3 G A	0,015	1— $2\frac{1}{2}$	deutlich, aber schwach
Tropaeolin 000/2 (Merck)	0,04	1— $2\frac{1}{2}$	deutlich, aber schwach

Die beiden ersten Farbstoffe, besonders Tuchrot, sind schwer löslich in Wasser und fallen bei Salzzusätzen leicht aus. Die wässrigen Lösungen wurden daher stark erwärmt und vor jedem Versuch frisch hergestellt. Sie wurden dann zu gleichen Teilen mit Ringerlösung vermischt<sup>1)</sup>. Die Ringerlösung wurde möglichst spät zu der Farblösung hinzugegeben. Die Opalinen zeigen keinerlei verändertes Aussehen in solchen Lösungen<sup>2)</sup>. Die obige Tabelle gibt die Färbeargebnisse an normalen frischen Opalinen in reiner „ $\frac{1}{2}$ -Ringerlösung“ an. Ein Zusatz von Leberauszug hat keinen Einfluß auf die Färbungsgeschwindigkeit oder Stärke auch bei langer Versuchsdauer.

Um den Einfluß von Narkoticum auf diese Vitalfärbung festzustellen, wurden Opalinen in farbloser Ringerlösung mit Organzusatz in üblicher Weise narkotisiert. Nach 5—12 Std. übertrug ich sie dann in die reinen Farblösungen mit der gleichen Narkoticumkonzentration und „ $\frac{1}{2}$ -Ringerlösung“, die Kontrolltiere (aus dem gleichen Darm) in die entsprechende Lösung ohne Narkoticum. Nach 1—3 Std. in farblose Lösung zurückgebracht und unter zwei nebeneinanderstehenden Mikroskopen verglichen, zeigten narkotisierte und Kontrolltiere absolut gleiche Färbungsstärken. Die Narkose war stets reversibel. Die Versuche zeigten eindeutig 1., daß die erprobten diamylaminlöslichen Säurefarbstoffe im Gegensatz zu den unlöslichen auch in gewöhnlicher physiologischer Salzlösung ohne organische Zusätze in nicht langer Zeit Opalinen deutlich färben; 2., daß diese Färbung durch Narkoticum nicht geschwächt oder verzögert wird.

In derselben Weise wie bei den diamylaminlöslichen Säurefarbstoffen wurde nun schließlich die *Beeinflussung der Vitalfärbung mit basischen Farbstoffen* geprüft. Schon narkotisierte Opalinen wurden zu gleicher Zeit mit den Kontrolltieren in die reinen Farb-Ringerlösungen mit und ohne Narkoticum gebracht und die schnell eintretenden Anfärbungen wie oben verglichen. Zur Verwendung kamen:

Neutralrot 0,0005—0,001 $\frac{0}{0}$ ;

Methylgrün 0,0005—0,01 $\frac{0}{0}$ , lipoidunlöslich nach *Ruhland* und *Höber*; ölsäure-diamylaminlöslich nach *Nirenstein*<sup>3)</sup>;

<sup>1)</sup> Solche Lösungen sind fernerhin als „ $\frac{1}{2}$ -Ringerlösung“ bezeichnet.

<sup>2)</sup> Dagegen quellen Opalinen in destilliertem oder Leitungswasser in  $\frac{1}{2}$  Std. auf und zeigen nach einer Stunde kaum noch Eigenbewegung.

<sup>3)</sup> *Nirenstein*, l. c. S. 315. Tab. V.

Rhodamin B 0,02%, sehr diffusibel;

Nachtblau 0,001%, hochkolloidal.

Es ergab sich wieder, daß im wesentlichen das Narkoticum keinen Einfluß auf Anfärbungsgeschwindigkeit und Farbspeicherung hat. Mit Methylgrün zeigten sich fast nie Unterschiede. Nur einige Male war die Farbintensität bei den Opalinen in beiden Lösungen zwar gleich, aber die Kontrolltiere erschienen etwas bläulicher als die mehr grünen narkotisierten Opalinen. Indicatoreigenschaften hat Methylgrün nicht; auch bei Reduktion mit Traubenzucker wird es nur entfärbt. Der Grund der Farbänderung konnte also nicht festgestellt werden. Mit Rhodamin gab es niemals irgendwelche Unterschiede in Zeit oder Intensität der Anfärbung. Da eine 0,02proz. Farblösung sehr stark gefärbt erscheint, mußte nach einigen Minuten die Lösung im Schälchen bis auf einen kleinen Tropfen abgesogen werden, um den Anfärbungsgrad der Opalinen zu vergleichen. Auf diese Weise erscheinen die Tiere schön gefärbt gegen die in dieser Schichtdicke farblos aussehende Lösung. Gibt man dann unter dem Mikroskop farblose Ringerlösung in das Schälchen, so sieht man sehr schön, wie die Infusorien erst noch einige Augenblicke gefärbt bleiben, dann aber sehr schnell ganz abblässen bis auf eine minimale Granulafärbung. Auf diese Weise erklärt es sich, daß ich bei Übertragung von Opalinen aus Rhodamin in farblose Lösungen zuerst niemals gute Färbungen erhielt. Das rasche Verschwinden des Rhodamins aus dem Opalinenplasma wird wohl eher auf seiner Diffusibilität als auf seiner Zerstörung beruhen, da es durch Traubenzucker nicht reduziert wird. Nach Angaben von *Overton*<sup>1)</sup> und *Ruhland*<sup>2)</sup> soll es allerdings langsamer als andere basische Farbstoffe eindringen. — Wegen der geringen Wasserlöslichkeit und der großen Elektrolytempfindlichkeit wurde Nachtblau in Äthylalkohol gelöst (0,002 g in 3 ccm), in 100 ccm Wasser eingetropfelt und die Lösung wieder zu gleichen Teilen mit Ringerlösung gemischt<sup>3)</sup>. Die Giftigkeit des Farbstoffes schrieb kurze Versuchsdauer vor (10 Min.). In dieser Zeit färben sich die Opalinen aber sehr gut ohne Schädigung und ohne Beeinflussung durch Narkose. — Am unklarsten und verschiedensten fielen die Versuche mit Neutralrot aus. Hier spielt die Indicatoreigenschaft des Farbstoffes eine Rolle und macht den Vergleich oft unmöglich. Aber die Reaktionsverhältnisse lassen keine Regelmäßigkeit erkennen. Schon die Kontrolltiere sind unter sich ganz ungleich gefärbt. Viele bleiben während 45 Min. und länger nur orange bei gleich guter Beweglichkeit, wie die stärker rot gefärbten. Ebenso zeigen die narkotisierten Opalinen einmal etwas rötlicheren,

<sup>1)</sup> *Overton*, Jahrb. f. wiss. Bot. **34**, 669. 1900.

<sup>2)</sup> *Ruhland*, Jahrb. f. wiss. Bot. **46**, 1. 1908.

<sup>3)</sup> Die geringen Mengen Alkohol haben keinen Einfluß auf die Opalinen.



einmal etwas gelblicheren Farbton. Ein Zusammenhang mit dieser Erscheinung und der Narkosezeit konnte nicht erbracht werden. Meist waren also die Kontrolltiere gleich orange gefärbt wie die narkotisierten; bei den ersteren kamen jedoch häufiger Opalinen vor, die stärkere Rotfärbung aufwiesen, besonders infolge stärkerer Farbspeicherung in den Granulis. Ein eindeutiges Resultat ließ sich mit Neutralrot nicht erzielen. — Trotzdem darf im ganzen gesagt werden, daß Narkoticum auch auf die Vitalfärbung mit basischen Farbstoffen keinen Einfluß hat.

### *Die Theorien der Vitalfärbung.*

Wie verhalten sich diese Ergebnisse zu den Theorien der Vitalfärbung? Es sei zunächst auf die schon angeführte Theorie *Bethes* eingegangen, nach der alle Zellen auch für Säurefarbstoffe gut permeabel sind, und nach der über eine sichtbare Speicherung innerhalb der Zellen die Reaktion im Zellinneren entscheidet. Die vorliegenden Versuche zeigen demgegenüber keinen engeren Zusammenhang der Vitalfärbung mit der H-Ionenkonzentration im Zellinneren der Opalinen. Weder ein Zusatz von Organen oder organischen Präparaten zu den Farblösungen, noch die Narkose scheinen die Zellinnenreaktion wesentlich und eindeutig zu beeinflussen, obwohl sie die Anfärbung aufs stärkste verändern. Am ersten könnten noch die schwankenden Ergebnisse an narkotisierten Opalinen mit Neutralrot zugunsten der *Betheschen* Theorie sprechen. Es ist aber gegenüber den verschiedenen Resultaten mit Neutralrot die absolute Einheitlichkeit der Ergebnisse mit diamylaminlöslichen und -unlöslichen Säurefarbstoffen, sowie den drei anderen basischen Farbstoffen hervorzuheben. Auch erklärt die Theorie den großen Unterschied zwischen diamylaminlöslichen und -unlöslichen Säurefarbstoffen in Färbung und im Verhalten gegenüber narkotisierten Opalinen keineswegs. Daher dürfte wohl ein so entscheidender Einfluß der H-Ionenkonzentration auf die sichtbare Farbstoffaufnahme, wie die Theorie ihn fordert, wenigstens für die vorliegenden Versuche nicht in Frage kommen.

Auch die Haftdrucktheorie *Traubes* kann nicht zur Erklärung der Vitalfärbung an Opalinen herangezogen werden, wenigstens soweit es sich um einen Vergleich mit den Messungen der Oberflächenaktivität für die Grenzfläche Wasser—Luft handelt. Vergleicht man die stalagmometrischen Messungen *Collanders* in Tabelle I seiner angeführten Arbeit, so findet man z. B. für Cyanol und Tuchscharlach dieselbe Tropfenzahl, obwohl diese Farbstoffe gegenüber Opalinen ein ganz verschiedenes Verhalten zeigen.

Die schon zur Genüge von anderer Seite<sup>1)</sup> widerlegte Ultrafiltertheorie *Ruhlands* kann auch hier keine Stütze finden. Man beachte etwa die guten Färberesultate mit dem kolloiden Nachtblau und Tuchscharlach und die in reiner Ringerlösung negativen Resultate mit dem diffusiblen Cyanol.

Dagegen stützen die vorliegenden Versuche gut die Ansicht *Höbers*, daß es sich bei den wenigen Zellen, die sich mit diamylaminunlöslichen Farbstoffen färben, um einen aktiven Vorgang handelt. Bei Opalinen wird dieser wahrscheinlich nur durch bestimmte organische Zusätze zu den physiologischen Salzlösungen hervorgerufen und ist narkotisierbar. Demgegenüber ist dann die Vitalfärbung mit diamylaminlöslichen sauren und mit basischen Farbstoffen als ein rein physikalischer (oder chemisch-physikalischer, falls Salzbildung in Frage kommt) Vorgang anzusehen, der nicht vom Funktionszustand der Zelle abhängt und demgemäß auch nicht narkotisierbar ist. Mit den Resultaten stimmt auch die *modifizierte Lipoidtheorie Nirensteins* sehr gut überein. Danach geht ja die Vitalfärbung von *Paramaecium* der Ausschüttelbarkeit des Farbstoffes durch das Ölsäure-Diamylamin-Gemisch aus der wässrigen Lösung ausnahmslos parallel. Soweit die von mir benutzten Farbstoffe in Betracht kommen, bestätigen meine Versuche vollkommen die Ansichten *Nirensteins*, wobei wohl auch auf die große Verwandtschaft der untersuchten Objekte hingewiesen werden muß. Die Färbungen mit diamylaminunlöslichen Farbstoffen fallen dann also ganz aus dem Rahmen dieser Theorie heraus durch die besonderen Bedingungen, die ihre Aufnahme in die Infusorienzellen vorschreiben, und sind einstweilen erklärt mit der erwähnten *Höberschen* Hypothese.

### Zusammenfassung.

*Opalinen färben sich mit diamylaminunlöslichen Säurefarbstoffen* außerhalb des Froschdarmes in Ringerlösung nur bei Zusätzen von bestimmten organischen Substanzen. Hierfür kommen wahrscheinlich Eiweiß oder eiweißähnliche Körper in Betracht. *Die erwähnte Färbung ist durch Narkoticum vollständig zu hemmen.* Dagegen färben sich die Infusorien auch in reiner Ringerlösung in nicht langer Zeit mit diamylaminlöslichen sauren und basischen Farbstoffen. Diese Färbung ist durch Narkoticum nicht zu hemmen oder anderweitig zu beeinflussen. Nur bei Neutralrot konnte wegen der Indicatoreigenschaft des Farbstoffes kein sicheres Resultat erzielt werden. Auch die Reaktionsverhältnisse im Zellinnern ergaben kein einheitliches Bild. Es kann somit der H-Ionenkonzentration im Zellinnern für die vorliegenden Versuche

<sup>1)</sup> *R. Höber*, Physikal. Chemie der Zelle u. der Gewebe, 5. Aufl., S. 522; *Nirenstein*, l. c. S. 327; *Collander*, l. c. S. 397.

nicht der Einfluß auf die Vitalfärbung eingeräumt werden, wie ihn die *Bethesche* Theorie fordert. Dagegen berechtigen die erprobten Bedingungen, unter denen Opalinen diamylaminunlösliche Säurefarbstoffe aufnehmen und die Hemmung dieser Färbung durch Narkoticum sehr wohl zu der *Höberschen* Annahme, daß es sich hier um einen aktiven Zellvorgang handelt, der noch nicht näher geklärt ist. Mit dieser Vorstellung und den übrigen Ergebnissen mit diamylaminlöslichen sauren und mit basischen Farbstoffen steht auch die modifizierte Lipoidtheorie *Nirensteins* im besten Einklang.

Zum Schluß möchte ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. *R. Höber* auch an dieser Stelle noch einmal recht herzlich danken für die überaus freundliche Anleitung und das lebhafteste Interesse, das er der vorliegenden Arbeit stets entgegenbrachte.

## Kurze Mitteilung.

### Entgegnung auf R. H. Kahns Kritik der Arbeit „Der Klammerreflex nach Sympathicusexstirpation“.

Von  
E. A. Spiegel und E. Sternschein.

(Aus dem neurologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 13. September 1922.)

Als wir beim Erscheinen unserer Arbeit „Der Klammerreflex nach Sympathicusexstirpation“<sup>1)</sup> in dem gleichen Heft des *Pflügerschen* Archivs eine Mitteilung von R. H. Kahn<sup>2)</sup> über „Zustand und Innervation der Muskeln der vorderen Extremitäten des Frosches während der Umklammerung“ fanden, konnten wir mit Befriedigung feststellen, daß unsere Resultate in guter Übereinstimmung mit denen des ausgezeichneten Prager Physiologen standen. Waren wir zu dem Schlusse gelangt, daß der efferente Schenkel des Klammerreflexes des brünstigen Frosches nicht über den Grenzstrang verlaufe, so hatte Kahn seine Untersuchung über diese Frage dahin zusammengefaßt, daß „die die Innervation der Umklammerungsmuskeln besorgenden Nervenfasern . . . ohne Beteiligung sympathischer nervöser Elemente“ verlaufen. Um so mehr muß es in Erstaunen setzen, daß derselbe Autor sich zu einer Kritik unserer Untersuchungen im Band 195 des *Pflügerschen* Archivs S. 366 veranlaßt sieht. Kahn muß zwar zugeben, daß unser oben angeführter Schluß richtig sei, da er ja zu demselben Ergebnis gekommen war. Er meint aber, daß wir zur Aufstellung dieses Schlusses nicht berechtigt seien, da unsere Untersuchungen „methodisch so unvollkommen seien, daß aus ihnen für oder wider eine sympathische Innervation der Umklammerungsmuskeln gar nichts hervorgehe“.

Zwei Einwände sind es, aus welchen Kahn sein Urteil ableiten zu können glaubt. Er wendet sich zunächst gegen die Methoden, die wir zur Kontrolle der Sympathicusexstirpation anwendeten. Wie er selbst zitiert, haben wir hierzu den mikroskopischen Nachweis der exstirpierten Ganglien und die Veränderungen an den

<sup>1)</sup> Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **192**, 115. 1921.

<sup>2)</sup> Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **192**, 93. 1921.

Gefäßen der operierten Extremität verwendet. Wir hätten nach Kahn die Verengerung der Pupille auf der Seite der Operation übersehen. Wenn wir dieses Symptom nicht registriert haben, so geschah dies, weil es keineswegs als Kriterium der gelungenen Ausschaltung der sympathischen Innervation einer Extremität gelten kann. Die Miosis auf der Seite der Operation beweist doch nur, daß sympathische Fasern an irgendeiner Stelle zwischen Grenzstrang und Auge verletzt worden sind. Es ist durch ihre Beobachtung in keiner Weise der Beweis erbracht, daß die Durchtrennung gerade an der Stelle erfolgte, wo die zum Auge ziehenden Fasern mit den die Extremität versorgenden gemeinsam verlaufen oder weiter peripherwärts. So kann denn die von Kahn besonders hervorgehobene Miosis höchstens in Begleitung mit anderen Erscheinungen als Beweis der gelungenen Ausschaltung der sympathischen Innervation einer Extremität gelten. Hierüber finden wir nun in Kahns eigener Arbeit sehr spärliche Angaben.

Ob eine anatomische Kontrolle der Operation regelmäßig erfolgte, wird von Kahn nicht erwähnt. Daß aber eine solche Kontrolle nicht ganz unnötig sei, geht wohl aus des Autors eigener Darstellung solcher Fälle seiner Beobachtung hervor, in denen die Tiere „im Laufe der ersten Tage (nach der Sympathicusexstirpation) den künstlich auslösbaren Ergreif- und Halterelex der Finger, sowie die ‚Lust‘ zur Umklammerung“ verloren. Wenn wir bei allen operierten Tieren, bei welchen wir uns vom Gelingen der Ausschaltung der sympathischen Innervation der Extremität durch die mikroskopische Kontrolle der exstirpierten Ganglien und durch die Untersuchung der Änderung der Zirkulation an der operierten Extremität überzeugten, die Umklammerung auf der Seite des Eingriffs gleich stark wiederfanden wie auf der Gegenseite, so müssen wir es einer unbefangenen Kritik überlassen, gegen wen der Vorwurf der größeren methodischen Unvollkommenheit gerichtet werden kann.

Was die Beobachtung der Gefäßveränderung an der operierten Extremität anlangt, so mußten wir an jenen rudimentären Schwimnhautbildungen, die auch an der Vorderpfote vorhanden sind, Gefäße zu finden trachten, um Änderungen der Zirkulation gegenüber der operierten Seite feststellen zu können. Kahn hält hierzu folgende Bemerkung für notwendig: Die „Frösche“ von Spiegel und Sternschein hatten also an den vorderen Extremitäten Schwimnhäute (das Anführungszeichen stammt vom Autor). Wir verzichten, im Tone des Herrn Prof. Kahn auf diese Bemerkung zu erwidern; sie charakterisiert wohl genügend die Mentalität der ganzen „Kritik“. Es sei nur auf die Anatomie des Frosches von Ecker-Wiedersheim-Gaupp (II. Auflage, Braunschweig 1904, III. Abteilung, S. 453 und Ab. 98, 99) verwiesen, wo das Vorkommen von Schwimnhäuten an den vorderen Extremitäten in Form von schmalen Hautsäumen sowohl bei *Rana esculenta*, als auch bei der von uns untersuchten *Rana fusca* beschrieben und abgebildet ist.

Der zweite Vorwurf, den Kahn gegen uns erhebt, betrifft die *Art der Prüfung der operierten Tiere*; er meint, uns sei der Unterschied zwischen der Umklammerung aus tetanischer, alternativer Innervation der Armmuskeln und dem ruhigen, tonischen, dauernden Verkürzungs- bzw. Spannungszustand, der „Sperre“ der umklammernden Muskeln gar nicht klar geworden, bei den von uns zur Prüfung verwendeten Maßnahmen habe der Umklammerungsreflex in tetanischem Festhalten des Weibchens bestanden, es wäre dagegen von uns zu untersuchen gewesen, ob die Tiere spontan umklammerten, ob sie in ruhiger, ungestörter Umklammerung tagelang verharren, ob sich hier etwa ein Unterschied zwischen links und rechts zeigte. Sogar die Lektüre der Arbeit Kahns (Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 192) habe den einen von uns (Sp.) noch nicht belehrt, da er in einer weiteren Mitteilung (Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 193, 7) die Gleichartigkeit der von ihm und Sternschein erhobenen Befunde mit denen Kahns erwähne.

Was die Auffassung des einen von uns über den Begriff des Muskeltonus anlangt, so braucht nur gerade auf die von *Kahn* angeführte Mitteilung (Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **193**, 11) verwiesen zu werden, wo der Tonus als ein Spannungszustand definiert wird, der eine bestimmte Haltung der dem Muskel zur Insertion dienenden Skeletteile bedingt und so lange andauert, als dieselben unbewegt bleiben, und wo weiter ausgeführt wird, inwiefern Haltungsänderungen als Zeichen für Änderungen des Muskeltonus verwendet werden können.

Bezüglich der von uns angewendeten Prüfung des Klammerreflexes wird wohl jedem, der verstehen will, aus unserer Beschreibung klar werden können, daß wir auch das ruhige, dauernde Umklammerthalten des Weibchens beobachtet haben. Sogar Herr Professor *Kahn* wird zugeben müssen, daß man nur dann den Versuch unternehmen kann, einen Zustand aufzuheben, wenn dieser überhaupt vorhanden ist. Wenn wir also ein Bild von dem Widerstand zu gewinnen trachteten, welchen die klammernde Muskulatur nach der Operation entfaltet, so konnte das selbstverständlich erst geschehen, wenn einmal das Männchen auf einem Weibchen, es umklammernd, saß. Für den, der das nicht einsieht, sei ausdrücklich hervorgehoben, daß wir auch das andauernde Umklammerthalten des Weibchens wie an normalen Fröschen beobachteten. Daß jede Änderung dieses Zustandes tetanische Kontraktionen auslöst, ist ohne weiteres zuzugeben, das Verhalten der Tiere gegenüber der Änderung der Belastung haben wir auch gar nicht untersucht, sondern den Widerstand, den sie einer gleichbleibenden Dauerbelastung entgegensetzen. Wenn wir beschrieben, daß wir das Männchen, während es ein Weibchen umklammerte, an den Beinen in die Höhe hielten, so liegt im Begriff des Haltens die Beschreibung eines Dauerzustandes; solange die Vorderarmmuskulatur des Männchens der gleichmäßige Zug durch das Gewicht des angehängten Weibchens trifft, ist eine Dauerkontraktion gegeben, welche gegenüber der mit einer Zustandsänderung einhergehenden, durch alternative Innervation bedingten wohl als tonisch zu bezeichnen ist.

Ebenso ist bei unserem Versuch, einen Keil zwischen dem Weibchen und dem darauf sitzenden Männchen einzuschieben, die selbstverständlich notwendige Voraussetzung, daß das Männchen vorerst überhaupt das Weibchen umklammert hält. Im Moment des Einschiebens des Keils werden gewiß tetanische Kontraktionen ausgelöst. Solange aber derselbe ruhig liegen bleibt, hat die Klammermuskulatur einem konstanten Zug Widerstand zu leisten, man hat also wohl das Recht, auch diesen Versuch als eine Prüfung der tonischen Komponente des Klammerreflexes anzusehen.

Wir müssen gestehen, daß wir die Anstellung unserer Versuche, welche den Widerstand der kontrahierten Umklammerungsmuskulatur gegen dauernde Belastung prüfen sollten, als durchaus notwendig, die bloße Beobachtung, daß die Froschmännchen nach der Sympathicusexstirpation einer Umklammerung überhaupt fähig sind, mit der allein sich *Kahn* schon zufrieden gab, für unzureichend halten. Der bloße Nachweis, daß der Klammerreflex nach Ausrottung der Pars brachialis des Sympathicus erhalten bleibe, gestattet den Einwand, daß der efferente Schenkel dieses Reflexes über das Axon der motorischen Vorderhornzelle *und* über den Grenzstrang verlaufe; erst wenn nachgewiesen wird, daß nach der Sympathicusexstirpation auch die Stärke der tonischen Verkürzung nicht abgenommen hat, kann ausgeschlossen werden, daß über den Grenzstrang verlaufende Impulse am Zustandekommen

dieser Contractur beteiligt sind. Über diesen Nachweis, der nur durch Untersuchung des Verhaltens einseitig operierter Tiere gegenüber Dauerbelastung erbracht werden kann, vermissen wir in der Untersuchung des verehrten Herrn Kritikers jede Bemerkung. Er begnügt sich mit der Feststellung, daß doppelseitig operierte Tiere „die Verstärkung der Umklammerung bei Lösungsversuchen“ zeigten. Doch möchten wir darum an seine Untersuchungen nicht jenes Maß anlegen, das von ihm bei Beurteilung unserer Arbeit verwendet wurde.

-----

## Berichtigung

zu der Abhandlung „Über den Parallelitätseindruck“.

Von

**Ernst Gellhorn** und **Ernst Wertheimer**.

Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. **194**, 535. 1922.

Der Versuch, welcher der Abb. 9, S. 549 zugrunde liegt, hat wesentlich eine irrige Deutung erfahren. Aus der Tatsache, daß die Fehlerkurve bei Stellung der Ebene der Kreisscheiben von links vorn nach rechts hinten umgekehrt verläuft wie bei Stellung der Ebene der Kreisscheiben von rechts vorn nach links hinten — in diesen Versuchen dient der Durchmesser der vorderen Kreisscheibe als Reizlinie —, folgt, wie eine einfache Überlegung zeigt, daß der Parallelitätseindruck in beiden Fällen unter den gleichen Bedingungen eintritt. Steht also die Ebene der Kreisscheiben in einem Winkel von  $45^\circ$  zur Frontalebene und bildet die Reizlinie einen Winkel von  $0-90^\circ$  mit der Vertikalen, so scheinen nach oben konvergierende Grade parallel zu sein. Bei weiterer Drehung der Reizlinie von  $90-180^\circ$  ist aber der Parallelitätseindruck an die Konvergenz der Geraden nach unten gebunden.



(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt a. M.)

## Über den Mechanismus der Zelloxydationen und der Blausäurewirkung.

Von  
Werner Lipschitz.

(Ausgeführt mit Unterstützung der Oskar Löw-Beer-Stiftung der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft).

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. Juni 1922.)

In früheren Untersuchungen<sup>1)</sup> wurde die Tatsache des Eingreifens der aromatischen Nitrogruppe in den physiologischen Atmungs- und Gärungsmechanismus unter gleichzeitigem reduktiven Übergang in die  $\beta$ -Phenylhydroxylamingruppe festgestellt und aus vielfältigen Einzelbeobachtungen auf korrelative Oxydationsvorgänge in den Zellen geschlossen. Diese Beobachtungen fügten sich zwanglos in die von Bredig<sup>2)</sup> und besonders von H. Wieland<sup>3)</sup> ausgesprochene Dehydrierungstheorie, nach der die katabolischen, zu einer Entbindung von freier Energie und Bildung von CO<sub>2</sub> führenden Stoffwechselprozesse nicht auf echter Oxydation, d. h. Übertragung von Sauerstoff, beruhen, sondern auf Dehydrierung, d. h. Aktivierung und Wanderung von Wasserstoff. Es ließ sich weiterhin die biologische Reduktion von m-Dinitrobenzol zu dem gelben m-Nitrophenylhydroxylamin als Prinzip einer sehr einfachen und empfindlichen *vergleichend-quantitativen* Methode zur Messung der Atmungs- oder Gärungsgeschwindigkeit benutzen, bei der also statt der Sauerstoffzehrung oder der Kohlensäureproduktion der *intermediär* entstehende Wasserstoff bestimmt wurde. Diese kolorimetrische Meßmethode erwies sich der so vielfach angewandten Methyleneblau-Entfärbungsmethode<sup>4)</sup> sowohl prinzipiell als in der Handhabung überlegen. Sie ist unterdessen auch von anderer Seite

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. **109**, H. 5. 1920; Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **183**, 275. 1920; Med. Klinik. 1920, Nr. 49; Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **191**, 1, 33, 51. 1921; Klin. Wochenschr. **1**, Nr. 1, 33. 1922; Arch. exper. Path. u. Pharm. **92**, S. XXVI.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. physikal. Chem. **70**, 34. 1910.

<sup>3)</sup> Ber. d. dtsh. Chem. Ges. **46**, 3327; **47**, 2085; **54**, 2353. 1921.

<sup>4)</sup> Skandin. Arch. **35**, 165. 1918; **40**, 1. 1920; **41**, 1. 1921.

[W. R. Hess<sup>1)</sup>] dem Studium von pathologisch veränderten Zellprozessen (Avitaminose) mit Erfolg dienstbar gemacht worden.

Die mit dieser Methode von Hess gewonnenen Ergebnisse führten zu der Erkenntnis, daß die katabolischen Zellprozesse von an alimentärer Dystrophie leidenden Tauben herabgesetzt sind, und decken sich mit den Respirationsversuchen von *Abderhalden*<sup>2)</sup>. Darüber hinaus ist Hess zu der Vermutung gelangt, daß die Ursache für diese Atmungsverminderung auf einer Schädigung des Atmungsfermentes beruhe, und hat die Avitaminose der Tauben durch schwache Blausäurevergiftung zu imitieren versucht, mit dem Erfolg, daß die Tauben tatsächlich ganz ähnliche Erscheinungen zeigten, wie sie bei der Avitaminose beobachtet werden.

Die weitere eigene Prüfung der Dinitrobenzol-Methode an atmenden Froschmuskelzellen führte im folgenden zu dem gewünschten Ziel, nämlich der möglichst lückenlosen Eingliederung des Reduktionsprozesses zwischen die bisher bekannten Tatsachen der Zellatmung, speziell zur Auffindung einer quantitativen Beziehung zu der acroben Sauerstoffzehrung und CO<sub>2</sub>-Produktion. Diesem Zwecke dienten einmal *absolut quantitative Messungen des Dehydrierungswasserstoffes* und zweitens die Feststellung, daß die *Nitroreduktion den korrelativen dehydrierungsartigen Abbau per Zellnahrungsstoffe zum Teil bis zu CO<sub>2</sub>, ihrem Endprodukt, führt*.

Dieser Befund findet eine gewisse Parallele in der von O. Warburg<sup>3)</sup> kürzlich an der Grünalge *Chlorella pyrenoidica* Chick. gemachten Beobachtung, daß der Reduktion von Salpetersäure eine Bildung von sog. *Extrakohlensäure* entspricht, die mit keinem Verbrauch von Luft-sauerstoff zusammenhängt. Allerdings macht der Umstand, daß sich in den ersten Stunden *mehr* als 2 Mol. Extrakohlensäure pro Mol. zu NH<sub>3</sub> reduzierter Salpetersäure bilden, den Vorgang undurchsichtiger; offenbar verflechten sich hier Stickstoff und Kohlensäure betreffende Assimilationsvorgänge, Atmungs- und Reduktionsvorgänge in nicht leicht abzugrenzender Weise miteinander. Immerhin schließt Warburg aus seinen Versuchen, daß jedenfalls *ein* Atom der Salpetersäure veratmet werden kann wie freier Sauerstoff, wobei Nitrit entsteht; dabei ist jedoch bemerkenswert, daß diese Reduktion zu Nitrit durch Blausäure nicht gehemmt wird, umgekehrt aber die Reduktion zu Ammoniak unter CO<sub>2</sub>-Bildung 20 000 mal empfindlicher gegen HCN ist als die Sauerstoffatmung und 20 mal empfindlicher als die Kohlensäureassimilation. Der Sauerstoffatmung, Nitratreduktion zu Nitrit und Nitratreduktion zu Ammoniak liegen also wohl verschiedene Mechanismen zugrunde.

Glücklicherweise stellen sich im Falle der Nitroreduktion durch die differenziertere Muskelzelle die Verhältnisse etwas einfacher dar.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **117**, 284. 1921.

2) Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. viele Bände 1920—1922.

3) Biochem. Zeitschr. **110**, 66. 1920.

Nachdem schon früher *H. Wieland*<sup>1)</sup> gezeigt hatte, daß die katalytische Dehydrierung von Traubenzucker mittels Palladium und ebenso die biologische durch das Ferment der Essigsäurebakterien bei Gegenwart von Methylenblau bis zum Endprodukt geleitet werden könne, ist nunmehr auch für die Zellen höherer Tiere erwiesen, daß eine *anaerobe* — nicht carboxylaseartige — Bildung von Kohlensäure prinzipiell möglich ist bei Gegenwart geeigneter Wasserstoffacceptoren. Damit ist auch der Begriff der „*Pseudoanoxybiose*“ festgelegt, der besagt, daß die energieliefernden Stoffwechselprozesse und die damit verbundenen mechanischen Funktionen auch der Zellen höherer Tiere ohne Luftsauerstoff bei Gegenwart von Wasserstoffacceptoren erhalten werden können<sup>2)</sup> — vgl. die alte Theorie vom Reservesauerstoff!

Die Möglichkeit, den aktivierten Wasserstoff, resp. das durch Reduktion gebildete Nitrophenylhydroxylamin nunmehr quantitativ gleichzeitig mit der gebildeten  $\text{CO}_2$  zu bestimmen, gestattete die *Erweiterung des Begriffes vom respiratorischen Quotienten*. Bisher wurde eine Änderung des respiratorischen Quotienten stets nur bei Änderung des verbrennenden *Substrats* beobachtet und umgekehrt von einer Veränderung des respiratorischen Quotienten auf eine Änderung der Stoffwechselvorgänge geschlossen, z. B. Übergang von Kohlenhydrat- in Fettverbrennung. In neuester Zeit hat weiter *Meyerhof*<sup>3)</sup> gezeigt, daß bei Schädigung oder Partialvergiftung von Zellen (durch Natriumfluorid) sich der respiratorische Quotient auch ohne Wechsel der verbrennenden Substanz verändern kann, nämlich indem die Reaktionsgeschwindigkeiten von aufeinanderfolgenden Stufen der Oxydation Bernsteinsäure  $\xrightarrow{+O_2}$  Fumarsäure  $\xrightarrow{+O_2}$  Kohlensäure sich gegeneinander verschieben. Daher konnte er mit wachsender Fluoridkonzentration durch Vergiftung und Hemmung des Vorganges I eine *relativ* wachsende Oxydationsgeschwindigkeit des fluoridbeständigen Vorganges II und damit eine Vergrößerung des respiratorischen Quotienten von 0 auf 0,8 erreichen. Aber auch dieser Vorgang bedeutet im Grunde ja einen Wechsel des verbrennenden Substrates unter Beibehaltung desselben *Verbrennungsmittels*. Die Verwendung endlich von Methylenblau zur Atmungssteigerung von erhitzten Acetonkokken<sup>4)</sup> oder von zerkleinertem Froschmuskeltgewebe<sup>5)</sup> ergab den gleichen

1) loc. cit.

2) *Lipschitz*, Med. Klin. 1920, Nr. 49; *Lipschitz* und *Hertwig*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **191**, 51. — *H. Braun* und *Cahn-Bronner* bez. ihn die gl. iche Erscheinung beim *Bac. pyocyaneus*, der, an sich streng anaerob, seine Lebensenergie auch durch Nitratreduktion gewinnen kann, ganz analog als „*Scheinanaerobiose*“. Zentralbl. f. Bakt. I, Bd. 86, H. 5, 380 (1921).

3) Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **175**, 46. 1919.

4) Ebendort **169**, 118. 1917.

5) Ebendort **175**, 34.

respiratorischen Quotienten wie die ohne Methylenblau verlaufenden Oxydationsvorgänge; also trat auch in diesem Falle kein Wechsel des Verbrennungsmittels (Luftsauerstoff) ein, ein Beweis dafür, daß der Farbstoff nicht als Wasserstoffacceptor funktionierte, sondern als Katalysator wirken kann, und daß die *Thunbergsche* Methylenblau-methode zur Erforschung des Mechanismus von Fermentvorgängen mit diesem prinzipiellen Mangel behaftet ist, worauf schon früher eingegangen wurde<sup>1)</sup>.

Eigene orientierende Versuche haben sogar weiter gezeigt, daß die Entfärbung von 0,5<sup>o</sup>/<sub>100</sub>iger Methylenblaulösung durch atmende Muskelzellen wohl mit ihrer Reduktion einhergeht, daß die Entfärbungsgeschwindigkeit der *Lösung* aber nicht völlig identisch ist mit der Geschwindigkeit der reduktiven Überführung des Farbstoffs in die Leukoverbindung. Während nämlich die durch chemische Agenzien, z. B. Palladiumwasserstoff, reduzierte Lösung sich bei Abfiltrieren in Berührung mit Luftsauerstoff äußerst schnell reoxydiert und wieder bläut, kann man die durch die Muskelzellen fast farblos gewordene Methylenblaulösung abfiltrieren und mit Luftsauerstoff, Wasserstoff-superoxyd oder Eisenchlorid in Berührung bringen, ohne Bläuung zu beobachten.

Das rührt davon her, daß die *Lösung farbstofffrei* geworden ist, während die Muskelstückchen das Methylenblau adsorbiert haben und als Leukoverbindung adsorptiv festhalten; die Muskelmasse selbst bläut sich daher nach Abfiltrieren schnell wieder von der Oberfläche her, gibt aber auch den reoxydierten Farbstoff nur sehr unvollständig an Wasser ab. Wir sehen also, daß die *Adsorptionsgeschwindigkeit des Methylenblaus* an die Muskelzellen für die *Entfärbungsgeschwindigkeit* ein beherrschender Faktor ist, der ohne direkte Beziehung zu der *eigentlichen Atmungsgeschwindigkeit* mit den Milieubedingungen variiert und beispielsweise mit abnehmender Farbstoffkonzentration ansteigt. Werden nun die Reduktionsversuche mit Methylenblau ohne dauernde Schüttelung vorgenommen, wie es von *Thunberg*, *Gunnar Ahlgren*<sup>2)</sup>, *A. H. Drew*<sup>3)</sup> beschrieben ist, so tritt noch die *Diffusionsgeschwindigkeit* des Farbstoffs als komplizierendes Moment hinzu — weitere Gründe, die die Verwendung der Methylenblauentfärbung in vorliegender Form als Indicator der Atmungsgeschwindigkeit von Zellen nicht rätlich erscheinen lassen<sup>4)</sup>.

Viel klarere Verhältnisse liegen bei der Nitroatmung vor: Hier ist eine katalytische Wirkung des irreversiblen Reduktionsvorganges

<sup>1)</sup> *Lipschitz* und *Gottschalk*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **191**. 1.

<sup>2)</sup> Skand. Arch. loc. cit.

<sup>3)</sup> Brit. Journ. of exp. pathol. **1**, Nr. 2; 115. 1920.

<sup>4)</sup> Vgl. *M. Henze*, Bioch. Zeitschr. **26**, 255. 1910 u. *Warburg*, Ergebn. d. Physiol. 1914, S. 266.

ausgeschlossen, es handelt sich vielmehr um einen *Wechsel des Verbrennungsmittels*, nicht des Substrates. Am schlagendsten wurde das schon früher durch Versuche<sup>1)</sup> bewiesen, die die reversible Aufhebung der Nitroreduktion durch Sauerstoffversorgung der Zellen zeigten, also das *konkurrierende* Eingreifen der beiden Wasserstoffakzeptoren in die Zelloxydationen. Es liegt demgemäß die Notwendigkeit vor, hinfort die Angabe des respiratorischen Quotienten mit der des jeweiligen *Wasserstoffacceptors* zu verbinden.

Während der respiratorische Quotient sowohl der unbeeinflussten atmenden Muskelzelle als auch bei durch Methylenblau katalytisch gesteigerter Atmung  $\text{CO}_2 : \text{O}_2$  (*gasförmig*) nach *Meyerhof*<sup>2)</sup> etwa 1,06 ist, berechnet er sich für den Wasserstoffacceptor Dinitrobenzol nur zu 0,1—0,15, wenn man die Menge gebildeter Dehydrierungskohlensäure durch die Menge des dabei reaktiv verbrauchten *Nitrosauerstoffs* dividiert — unter entsprechender Berücksichtigung der Molekulargewichte:

$$\frac{\text{gefundene Menge CO}_2 /_{44}}{\text{gefundene Menge reduziertes Dinitrobenzol} /_{168}} = 0,1 \text{ bis } 0,15.$$

Es entspricht nämlich einer Reduktion von im Durchschnitt 20 mg Dinitrobenzol (entsprechend 4 mg Luftsauerstoff) durch 2 g Muskulatur nur 0,6 mg produzierte  $\text{CO}_2$  oder von der doppelten Dinitrobenzoldmenge in optimalem Milieu ca. 1,3 mg  $\text{CO}_2$ . Da nun durch die Untersuchungen von *Meyerhof*<sup>3)</sup> und *Laquer*<sup>4)</sup> mit größter Wahrscheinlichkeit festgestellt ist, daß die verbrennende Substanz der Froschmuskulatur in der Hauptsache Milchsäure ist, ergibt sich, daß pro Gramm Muskulatur bei der Nitroatmung in optimalem Milieu erheblich mehr als 0,4% Milchsäure verbrannt wird, von diesen aber mehr als 80% *unvollständig*. Eine Überschlagsrechnung läßt erkennen, daß offenbar viel größere Mengen von Milchsäure bei der Nitroatmung oxydativ angegriffen werden als bei der Sauerstoffatmung, daß aber diese Mengen noch im Einklang stehen können mit den als maximal bildungsfähig festgestellten Werten; nur ein kleiner Teil der Milchsäure liefert dabei Kohlensäure, ein Vorgang, der seine Parallele in der verschwenderischen Verwertung von Nährmaterial bei den anoxybiontischen Tieren findet.

Damit ist eine *neue Möglichkeit gegeben, den Kohlenhydratabbau in Zellen zu studieren*: die Verwendung von Wasserstoffacceptoren als Verbrennungsmittel läßt bereits rechnerisch eine starke Anhäufung von intermediären Verbrennungsprodukten voraussehen, die zwischen

1) loc. cit.

2) Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **175**, 35.

3) Ebendort **182**, 284; **185**, 11. 1920; **188**, 114. 1921.

4) Zeitschr. f. physiol. Chem. **93**, 60. 1914; **116**. 1921.

Milchsäure und Kohlensäure stehen. Es ist auch zu erwarten, daß die bei der „Acceptoratmung“ nachzuweisenden Produkte unvollständiger Oxydation eine Rolle als Durchgangsstufen der physiologischen Kohlenhydratverbrennung spielen. Neben der von *Neuberg* angegebenen<sup>1)</sup> und von seinem Schüler *J. Hirsch*<sup>2)</sup> auf die Kohlenhydratzeretzung in den Froschmuskelzellen angewandten Dimethylhydroresorcin-Abfangmethode, die zum Nachweis von Acetaldehyd geführt hat, bietet also der neue Weg der *anaerob durchgeführten „Acceptor-Atmung“* eine allgemein anwendbare aussichtsvolle Methode zur weiteren Klärung des Atmungsmechanismus.

Allerdings spricht speziell im Falle der Nitroatmung alles dafür, daß nicht nur die Nitrogruppe den Oxydationsvorgang in Gang setzt, sondern daß die reduktiv entstehende Hydroxylamingruppe ihn bremst durch Fixierung unvollständiger Oxydationsprodukte. Als eines dieser Produkte wurde Acetaldehyd in kleinen Mengen gefunden. Nach dem sehr niedrigen respiratorischen Quotienten kommen aber in der Hauptsache höher oxydierte *Dreikohlenstoffprodukte* in Frage, von denen vor allem an die Brenztraubensäurestufe und  $\beta$ -oxydierte Produkte zu denken ist. Denn bereits erhebliche Acetaldehydbildung ginge mit einer umfangreichen  $\text{CO}_2$ -Abspaltung einher, die bei quantitativem Verlauf der Milchsäureverbrennung sogar einen respiratorischen Quotienten von 2 erteilen würde. Ein Teil der Produkte allerdings entgeht konstant der Fixierung und liefert  $\text{CO}_2$ , ebenso wie unter optimalen Atmungsbedingungen oder bei Dinitrobenzolmangel auch ein Teil des Nitrophenylhydroxylamins weiter bis zum Amin (Nitranilin, kenntlich an der Azofarbstoffbildung) reduziert wird; — *reduktive Entgiftung*. Es handelt sich also bei dem studierten Vorgang wohl um eine Kombination von Acceptoratmung und von gleichzeitiger Abfangung erster Oxydationsstufen der Milchsäure.

Es sei daran erinnert, daß auch *H. Wieland*<sup>3)</sup> bei seinen Methyleneblau- oder Chinon-Dehydrierungen von Kohlenhydrat weit geringere Ausbeuten an Endprodukt erhielt, als sie bei der Verbrennung mit Sauerstoff gewonnen werden, was gleichfalls auf Anhäufung von unvollständigen Abbauprodukten schließen läßt. Sauerstoff ist eben der optimale Wasserstoffacceptor, wie sich schon energetisch ergibt: Die Reduktion des Sauerstoffs verläuft nämlich exotherm:  $\text{O} + \text{H}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$  (gasförmig) + 59,4 Cal, während die Reduktion von anorganischen oder organischen Verbindungen mit negativer Wärmetönung verläuft; z. B.  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NH}_4^+ - 65\,500 \text{ cal}$  [*H. Pick*<sup>4)</sup>]; daher wohl u. a. der

1) *Biochem. Zeitschr.* **78**, 238. 1916; **89**, 365; **92**, 234. 1918.

2) *Ebdort* **117**, 113. 1921.

3) *loc. cit.*

4) *Zeitschr. f. Elektrochem.* **26**, 182. 1920, zit. n. *Warburg* und *Negelein* *Biochem. Zeitschr.* **110**, 82. 1920.

höhere Nutzeffekt der mit dem Begriff der „Sauerstoffatmung“ zu zusammengefaßten Stoffwechselfvorgänge gegenüber dem der „gärungs“-artigen. Will man einen Vergleich wagen, so kann man den oxydativen Kohlenhydratabbau bei Gärung oder Acceptoratmung in Parallele setzen mit der Verbrennung von Kohle im schlecht ziehenden Ofen, die bei Inanspruchnahme großer Mengen von Brennmaterial zur Bildung von unvollständigen Verbrennungsprodukten neben relativ wenig Kohlensäure führt.

Hand in Hand mit dem Studium des Mechanismus der biologischen Oxydo-Reduktionen wurde weiter mit Hilfe der Dinitrobenzolmethode die *Rolle der Blausäure als Zellgift* untersucht. In vorhergehenden Mitteilungen<sup>1)</sup> war bereits darauf hingewiesen worden, daß die Hemmung der gärungsartigen Nitroreduktion des *Ascaris* unverhältnismäßig geringer ist als die Hemmung der atmungsartigen Nitroreduktion des Froschmuskels und darin übereinstimmt mit der sehr verschiedenen Empfindlichkeit der ganzen Tiere gegenüber Cyankali. Es war aber weiter schon aufgefallen, daß auch die atmungsartige Nitroreduktion weder von Muskelzellen noch von Spermatozoen<sup>2)</sup> durch KCN *komplett* aufzuheben ist — ganz im Gegensatz zu ihrem Verhalten gegenüber unspezifischen Narkotica. Der Verlauf der Konzentrationshemmungskurve von (neutralisiertem) KCN gegenüber reduzierenden Muskelzellen<sup>3)</sup> hatte nach einem erreichten Hemmungsmaximum von 60—70% einen eigenartigen Wiederanstieg der Reduktion trotz (von 0,5<sup>0</sup>/<sub>100</sub> auf 6<sup>0</sup>/<sub>100</sub>) weiter steigender Giftkonzentration erkennen lassen. Am gleichen Ort war schon die Möglichkeit einer dabei mitspielenden uncharakteristischen Reduktionssteigerung durch OH<sup>-</sup>-Ionen dadurch ausgeschaltet worden, daß Versuche mit wässriger HCN-Lösung stets eine inkomplette Reduktionshemmung, ja selbst eine gewisse Hemmungsverminderung bei steigender Giftkonzentration erkennen ließen. Es wurden nun die Bedingungen der Blausäure-Konzentrationshemmungskurve genauer studiert und festgestellt, daß ein erheblicher Anteil der Hemmungsverminderung unter neutralisiertem Cyankali durch *steigende reduktionsfördernde Alkalisalzmengen* verursacht wird, daß aber auch in Lösungen von identischem Salzgehalt die *steigende Blausäurekonzentration selbst* einen gewissen *stimulierenden Einfluß* gegenüber der Nitroreduktion besitzt.

Was die Wirkung von Neutralsalzen betrifft, so ist hervorzuheben, daß schon durch sehr kleine Mengen von Ca<sup>++</sup> eine beträchtliche Hemmung der Nitroreduktion eintritt, die bei Gehalt der Suspensions-

<sup>1)</sup> loc. cit.

<sup>2)</sup> loc. cit.

<sup>3)</sup> loc. cit.

flüssigkeit an  $\text{CaCl}_2$  von der in der Ringerlösung enthaltenen Konzentration 40% beträgt. Damit stimmen Beobachtungen von *Warburg*<sup>1)</sup> über den Atmungsabfall von Vogelerythrocyten mit verletzter Plasmahaut unter  $\text{CaCl}_2$  überein und von *Meyerhof*<sup>2)</sup>, der wegen der Atmungshemmung durch Ca-Ionen das Atmungskoferment der Froschmuskelzellen nicht mit Leitungswasser extrahierte, sondern mit destilliertem Wasser. — Umgekehrt zeigte sich, daß die Nitroreduktion HCN-vergifteter wie unversehrter Muskelzellen durch Zusatz von Salzen der fixen Alkalien zu destilliertem Wasser um 30—40% ansteigt und bei Isotonie der Salzlösung ihr Optimum hat. Dabei ist die Wirkungsstärke von KCl fast identisch mit der von NaCl; die von *Ph. Ellinger*<sup>3)</sup> an eröffneten Vogelerythrocyten gefundene Atmungssteigerung speziell durch Kaliumsalze ist also keine allgemeine Erscheinung biologischer Oxydationen, sondern hängt mit den besonderen Bedingungen zusammen, die in der roten Blutzelle herrschen, vielleicht gerade mit ihrem physiologischen Reichtum an Kalium.

Von größerem Interesse scheinen Beziehungen der hier festgestellten Wirkung von Chlornatrium gegenüber der Froschmuskelzelle zu älteren Beobachtungen von *Jacques Loeb* und *Warburg*. Dieser<sup>4)</sup> fand nämlich, daß NaCl-Lösungen die Atmung des befruchteten Seeigelcyes — *Mac Clendon* auch die von unbefruchteten Arbaciaeiern — sehr erheblich steigern, und daß die daraus resultierende Giftwirkung aufgehoben werden könne durch kleine Mengen von Cyanid. Dieses kompensiert nach *Warburg* die abnorme Atmungssteigerung des Kochsalzes, das primär die Zellgrenzschicht verändert und schließlich zur Cytolyse führt. Obwohl *Warburg* eine Wirkung des NaCl auf die Oxydationsgeschwindigkeit von Vogelerythrocyten und Froscharterien vermißte, betonte er, daß auch diese Gebilde durch reine Kochsalzlösungen geschädigt werden, und vermutete als Ursache dafür die gleiche Veränderung der Zellgrenzschicht wie beim Seeigeli. Wir sehen nun, daß tatsächlich an den künstlich eröffneten Muskelzellen die Zelloxydoreduktionen durch NaCl erheblich gesteigert werden, und erkennen somit auch am Modell der eröffneten Muskelzelle, daß eine antagonistische Oxydationsbeeinflussung zwischen Blausäure einerseits und Chlornatrium — allerdings entsprechend auch KCl — auf der andern Seite besteht. So erklärt sich zum großen Teil die in der ersten Mitteilung<sup>5)</sup> dargestellte rückläufige Cyanidhemmungskurve der Nitro-

1) *Ergebn. Physiol.* **14**, 273. 1914.

2) *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **175**, 1. 1919.

3) *Zeitschr. physiol. Chem.* **116**, 266. 1921.

4) Siehe *Ergebn. Physiol.* **14**, 278; vgl. auch *Meyerhof*, *Biochem. Zeitschr.* **33**, 291. 1911.

5) *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **191**, 1. 1921.



reduktion, die entsprechend auch bei einem Gehalt der Lösung von ca. 0,5% Neutralsalz ihr neues Minimum hat. Dadurch wird aber *nicht die in jedem Fall unvollständige Blausäurehemmung prinzipiell erklärt*, für die ein *besonderer Mechanismus* anzunehmen ist.

Schon von *Thunberg*<sup>1)</sup> und in jüngster Zeit wieder von *Roger*<sup>2)</sup> war beobachtet worden, daß das Reduktionsvermögen von Zellen gegenüber Methylenblau durch Cyankali nicht aufgehoben werden kann, sondern daß ein Teil der Methylenblau-reduktion blausäurefest ist; jedoch kam diesem Befund nach *Roger* selbst keine erhebliche biologische Bedeutung zu, da ja die Methylenblau-reduktion rein chemisch bereits durch ein Gemisch von Globulin und Albumin bewirkt wird, und so ist *Roger* der Meinung, die *biologische* Methylenblau-reduktion werde durch Blausäure aufgehoben, die *chemische* bleibe erhalten. Das würde auch zu dem Befund von *Thunberg* stimmen, daß die Bernsteinsäureoxydation wasserextrahierter Pferdemuskelatur in Gegenwart von Methylenblau durch KCN gehemmt wird, nicht aber die Farbstoffreduktion.

Diesen kaum eindeutigen Befunden stehen nun folgende eigene gegenüber: einer biologischen reduktiven Bildung von ca. 20 mg Nitrophenylhydroxylamin bei der HCN-Konzentration 0 entspricht die Bildung von 4–9 mg Nitrophenylhydroxylamin bei HCN-Konzentrationen zwischen 0,1 und 40/100; auch in 1,5% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> enthaltendem Milieu beträgt die maximal erreichbare HCN-Hemmung nicht mehr als 2/3 bis 3/4 der Normalreduktion.

Dieser Befund erhält nun weiter reichendes physiologisches Interesse durch parallele CO<sub>2</sub>-Analysen mit der *Warburg-Dornerschen* Versuchsanordnung: Es ergab sich, daß nicht nur die *anaerobe* Nitroreduktion, sondern sogar die Nitroreduktion der mit den angegebenen hohen *Blausäurekonzentrationen vergifteten Froschmuskelszelle zur Bildung von Kohlensäure* führt, während nach *Warburg*<sup>3)</sup> und *Meyerhof*<sup>4)</sup> die normale Sauerstoffzehrung und entsprechend CO<sub>2</sub>-Produktion der Zellen längst aufgehoben ist. Im Gegensatz zu dieser Beobachtung vertrat *Warburg* die Auffassung, daß „eine zweite arbeitliefernde chemische Reaktion, die an Stelle der Sauerstoffatmung treten könnte, im Froschmuskel nicht existiert“<sup>5)</sup>.

Es gibt also prinzipiell *keinen unmittelbaren Blausäure-Zelltod*, wie alle bisherigen Beobachtungen anzunehmen zwangen, sondern es sind

<sup>1)</sup> Skand. Arch. **35**, 165.

<sup>2)</sup> Presse méd. Jg. 28, Nr. 84, 825. 1920. Compts. rend. soc. Biol. **83**, 30. 1352; **31**, 1377. 1920.

<sup>3)</sup> Vgl. Physikal. Chem. d. Zellatmg. Bioch. Zeitschr. **119**, 134. 1921.

<sup>4)</sup> Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **175**, 20. 1919.

<sup>5)</sup> Ergebn. d. Physiol. **14**, 261. 1914.

an verschiedenen Zellarten (Muskeln, Spermatozoen, Bakterien) *unter Blausäure verlaufende energieliefernde Stoffwechselprozesse nachweisbar*, die bis zu *Stoffwechselendprodukten* führen.

Die an Froschmuskel- und Ascariszellen vergleichend gemachten Erfahrungen gestatteten nun aber ein tieferes Eindringen in den Mechanismus der unter HCN verlaufenden Oxydoreduktionen. Dabei erschien die aktivierende Wirkung der Blausäure so prägnant, daß sie mitunter nicht nur mehr als quantitativ, sondern als qualitativ imponierte.

Während wasserextrahierte Froschmuskulatur nicht merklich atmet oder reduziert, wird sie bei Suspendierung in z. B. 0,5proz. Bernsteinsäure oder Fumarsäurelösung wieder atmungs- und reduktionsfähig. Fügt man aber den konstant gehaltenen Lösungen dieser Säuren steigende Mengen HCN oder neutralisiertes KCN zu, so erhält man im Falle der Bernsteinsäure eine steil abfallende allerdings wiederum von der Abszisse entfernt bleibende Reduktionskurve, — im Falle der Fumarsäure jedoch eine *mit der Cyanid-Konzentration über den Anfangswert erheblich steigende* Reduktionskurve.

Während die durch Eintauchen in flüssige Luft und Pulvern strukturzerstörte Muskulatur in Wasser oder Salzlösung kaum mehr atmet<sup>1)</sup> oder Dinitrobenzol reduziert, steigen die Reduktionswerte mit steigender Cyanid-Konzentration zu meßbarer Größe an. In ihrem von der Zellstruktur unabhängigeren Verlauf entspricht also die *durch Blausäure aktivierte Nitroreduktion der Froschmuskeln der Gärungsreduktion der Ascariszellen*<sup>2)</sup> oder Hefemacerationssäfte.

Während die atmungsartige Reduktion der Froschmuskeln durch optimale Sauerstoffversorgung der Zellen völlig unterdrückbar ist, läßt sich die unter Blausäure eintretende Nitroreduktion der gleichen Zellen nicht mehr durch konkurrierenden Sauerstoff aufheben. Auch in diesem Punkte ist eine Ähnlichkeit der durch *Blausäure umgeschalteten Atmungsreduktion mit der Gärungsreduktion* des *Ascaris* unverkennbar. Hierher gehört wohl auch die Ähnlichkeit der Blausäureunempfindlichkeit von Ascariszellen und der Widerstandsfähigkeit von schwach blausäurevergifteten Muskelzellen gegen noch steigende Cyanidkonzentrationen.

Übereinstimmend mit dem Verhalten von atmungsartig oder gärungsartig Dinitrobenzol reduzierenden Frosch- oder Ascariszellen ist auch die unter Blausäure verlaufende Nitroreduktion der Muskelzelle *thermolabil* und an die *Gegenwart kofermentartiger Substanzen* gebunden.

<sup>1)</sup> Thunberg, Zeitschrift f. Hammarsten, S. 20ff. 1906.

<sup>2)</sup> Lipschitz und Gottschalk, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 191, 33.

Nun hat in jüngster Zeit *O. Warburg*<sup>1)</sup> seine Vorstellungen vom Wesen der Zellatmung und der Blausäure-Giftwirkung dahin formuliert, daß die Zellatmung eine Schwermetall- speziell Eisenkatalyse an den Oberflächenelementen der Zelle sei; diese seien mosaikartig so angeordnet, daß nur immer einzelne von ihnen mit Eisen beladen seien. Die Blausäure bedecke adsorptiv — da reversibel — die Fe-haltigen Strukturelemente und hemme dadurch die Oxydationen. Diese Vorstellungen ruhen auf folgenden Befunden *Warburgs*: Im Seeigelei ist eine winzige Menge Eisen enthalten, die ihrer Größenordnung nach die hemmende KCN-Konzentration stöchiometrisch verständlich macht. Zufügung entsprechender Mengen  $\text{Fe}^{II}$  (als *Mohrsches Salz*) machte atmungsunwirksame Vogelblutstromata atmungsfähig. Die von *Warburg* zu seinen Modellversuchen benutzte Blutkohle enthielt gleichfalls winzige Mengen Eisen und verlor ihre Atmungsfähigkeit durch Blausäurezusatz. Eine zwanzigmal eisenärmere aus Benzoesäure hergestellte Kohle bewirkte die Cystinoxydation erheblich langsamer und übertrug wiederum nach Behandlung mit Eisensalz den Sauerstoff dreimal so schnell wie vorher trotz unveränderten Adsorptionsvermögens.

Da Blausäurelösungen von geringerer Konzentration als  $\frac{1}{10}$  normal keine nachweisbare Adsorptionsverdrängung mehr besitzen — entsprechend der niedrigen Adsorptionskonstante der Blausäure — trotzdem aber die Oxydationen stark verlangsamten, kann es sich bei der Blausäurewirkung um keine unspezifische Oberflächenwirkung handeln wie bei den allgemeinen Narkotica.

Will man nun also den neuen mit Hilfe des Wasserstoffacceptors Dinitrobenzol gewonnenen Erkenntnissen gerecht werden, die darin gipfeln, daß zwar die Nitroreduktion hochgradig empfindlich gegen Blausäure ist, andererseits aber durch noch so hohe Konzentrationen nicht aufgehoben werden kann und stets zur Kohlensäurebildung führt, so bleibt offenbar nur zu wählen zwischen der Annahme einer dritten energieliefernden Zellreaktion neben Atmung und Gärung, einer „eisenfreien Atmung“ oder aber der Annahme eines Überganges von Atmungsvorgängen in gärungsartige, wofern man die letzten definiert als schwermetallfreie, von gasförmigem Sauerstoff unabhängige Oxydoreduktionen, die zu Kohlensäure und unvollständigen Verbrennungsprodukten führen.

*Theorie*: „Die Blausäure hemmt (nach *Warburg*) die Zellatmung, indem sie die verbrennenden Stoffe von den eisenhaltigen Oberflächenelementen verdrängt dank ihrer eigenen Affinität zu Schwermetallen. — *Trotzdem werden durch Blausäure unter geeigneten Bedingungen, d. h. Gegenwart leicht reduzierbarer Gruppen (Wasserstoffacceptoren), Oxydo-*

<sup>1)</sup> Bioch. Zeitschr. **119**, 134. 1921.

reduktionen der Zellen aktiviert resp. erhalten, die nach Ausschaltung von Schwermetall bei Unabhängigkeit von Luftsauerstoff zu Kohlensäure führen, also unter den Begriff der Gärung fallen. — Die Blausäure schaltet Atmungsvorgänge in Gärungsvorgänge um.“

Einige besondere Gründe scheinen der hier erörterten Hypothese von dem Mechanismus der Blausäurewirkung ein gewisses Gewicht zu verleihen. Zunächst ist im Falle der Nitroatmung zu erwähnen, daß die experimentellen Bedingungen zur Erkennung einer solchen Umschaltung des Oxydationsmechanismus besonders günstig sind; *stricto sensu* verläuft ja die Nitroatmung bereits der *unvergifteten* Zelle äußerlich nach einer Gärungsformel: Kohlenhydratverbrennung bei Unabhängigkeit von Luftsauerstoff, dabei Bildung von Kohlensäure und erheblichen Mengen unvollständig verbrannter Produkte, die aus dem sehr niedrigen respiratorischen Quotienten für den Wasserstoffacceptor Dinitrobenzol erschließbar sind. Unter Blausäure findet nun die *Umschaltung* auch des *Mechanismus* der Milchsäureverbrennung statt: Nichtverwertung zugeführten Sauerstoffes, Unwirksamwerden der Peroxyde spaltenden Muskelkatalase<sup>1)</sup>, geringere Bedeutung der intakten Zellstruktur, Unempfindlichkeit auch gegen höhere Blausäurekonzentrationen; trotzdem Bildung von Kohlensäure und sauerstoffärmeren Verbrennungsprodukten, und bemerkenswerterweise relativ bessere Verbrennbarkeit der ungesättigten Fumarsäure als der gesättigten Bernsteinsäure.

Auf Grund dieser Befunde scheint die alte Vorstellung vom „Reservesauerstoff der Zellen“ in veränderter Form Berechtigung zu gewinnen und scheint die Vermutung nahegerückt, daß auch im normalen Zellgeschehen bei Gegenwart von physiologischen Wasserstoffacceptoren, unter denen neben Doppelbindungen besonders an das Glutaminsäure-Cystein-Dipeptid von Hopkins<sup>2)</sup> zu denken ist, Teilvorgänge der Atmung unter Blausäure nicht sistieren, sondern gärungsartig verlaufen, ohne freilich das normale Endprodukt (CO<sub>2</sub>) zu erreichen. Dafür scheint mir auch die von v. Weizsäcker<sup>3)</sup> studierte überraschend große mechanische Leistung des blausäurevergifteten schlagenden Froschherzens zu sprechen — kurz, der Wirkungsmechanismus der Blausäure als Zellgift gibt sich als noch komplizierter zu erkennen, als es bisher den Anschein hatte.

Auch unter den durch anorganische Katalysatoren beschleunigten Reaktionen sind Fälle realisierbar, in denen Zusatz von Giften die Gesamtheit der Oxydationen oder Reduktionen nicht gleichmäßig

<sup>1)</sup> Santesson, Skand. Arch. **23**, 99. 1909.

<sup>2)</sup> Bioch. Journ. **15**, 286.

<sup>3)</sup> Sitzungsber. Heidelberg. Akad. d. Wissensch. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **147**, 135. 1912.

steigert oder lähmt, sondern Reaktionsverschiebungen durch Katalysatorbeeinflussung hervorruft. Es sind vor allem die in jüngster Zeit von *Rosenmund* und *Zetzsche*<sup>1)</sup> studierten Reduktionen aromatischer Säurechloride und Oxydationen aromatischer Alkohole mit Hilfe von Palladium zu erwähnen, bei denen Zusätze von geschwefeltem Chinolin oder Xanthon die Wasserstoffanlagerung resp. -Abspaltung unter mehreren theoretisch möglichen Richtungen eine ganz bestimmte vorwiegend einschlagen ließ. Die Verfasser stellen sich — auf die Berechtigung oder Unanfechtbarkeit<sup>2)</sup> ihrer theoretischen Formulierungen sei hier nicht eingegangen; — die Gesamtheit aller bei einem katalysierten Prozeß beteiligten Komponenten als ein besonders labiles System vor, „Komplex“, der nach verschiedenen Richtungen wieder zerfallen kann. Sie fassen von hier aus bereits den Fall ins Auge, daß ein unwirksames, d. h. in die ursprünglichen Bestandteile zerfallendes System durch Zusätze erst zu einem wirksamen, d. h. zu neuen Reaktionsprodukten führenden wird, und meinen, daß besonders geeignete Stoffe solche mit stark ungesättigten Gruppen seien.

Die Bedingungen zur Aktivierung eines an sich unwirksamen Systems sind natürlich bei der stark ungesättigten Blausäure theoretisch gegeben, ebenso wie sie zum Unwirksammachen eines an sich wirksamen Komplexes (Atmungssystem) gegeben sind. Jedenfalls ist vorläufig kein Grund zwingend, für jede neu gefundene Zellfunktion ein besonderes Enzym anzunehmen, wie es bisher üblich ist, und etwa die Dehydrasen („Hydrogenotransportasen“) als Individuen nach ihrer Kryo- resp. Thermolabilität differenzieren zu wollen (*Thunberg*<sup>3)</sup>).

### Experimentelles.

Die **Methodik** entspricht der früher<sup>4)</sup> geschilderten prinzipiell, doch sind einige Angaben zu vervollständigen:

1. Das verwendete m-Dinitrobenzol muß sorgfältig gereinigt sein; die Krystallisation darf nur aus Alkohol erfolgen, nicht aber z. B. aus einem Gemisch von Benzol und Petroläther, aus dem es sich besonders schön abscheidet. Jedenfalls wurde die Beobachtung gemacht, daß ein für biologische Versuche brauchbares Präparat nach Umkrystallisieren aus diesem Lösungsmittel und sorgfältigem Lufttrocknen nicht mehr durch Zellen reduziert wurde; wir führen das Unwirksamwerden auf hartnäckig in den Krystallen festgehaltene winzige Reste des Lösungsmittels zurück, das ein starkes Oxydationsgift darstellt.

2. Die erforderliche feine Aufteilung der Muskulatur und Homogenisierung sowie das genaue Abwägen der 2,0 g-Portionen wurde schon betont<sup>5)</sup>. Als Suspensionsflüssigkeit diene je nach dem speziellen Zweck 10 ccm destilliertes Wasser,

<sup>1)</sup> Ber. dtsch. Chem. Ges. **54**, 425, 638 u. 1092. 1921.

<sup>2)</sup> cf. *Abel*, Ber. Chem. Ges. **54**, 1407. 1921 u. **55**, 322. 1922.

<sup>3)</sup> Skand. Arch. **40**, 71 u. 80. 1920.

<sup>4)</sup> Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **191**, 1. 1921.

<sup>5)</sup> loc. cit.

isotonische Neutralsalzlösungen, gepufferte Phosphatlösungen ( $p_{\text{H}} = 7,4$ ) oder 1,5proz.  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -Lösung, die ev. Muskelkochaft enthält; diese Phosphatlösungen bewirken die größte Reduktionsgeschwindigkeit; doch muß ev. die infolge der alkalischen Reaktion rötliche Reduktionsflüssigkeit zwecks colorimetrischer Einstellung mit 5 Tropfen 15proz. Essigsäure versetzt werden, wobei die Farbe in rein gelb umschlägt. Im Verlauf der Untersuchung erwies es sich als vorteilhaft, die Filtrate mit 95proz. Alkohol auf das Doppelte resp. Vierfache zu verdünnen; dabei fallen gelöste Eiweißkörper und Trübungen farblos nieder, und die neuerdings filtrierten gelben Lösungen eignen sich wegen ihrer vollkommenen Klarheit und reinen *nicht zu intensiven* Färbung zu mühelosem colorimetrischen Vergleich, so daß die von Hess<sup>1)</sup> vorgeschlagene photographische Registrierung nur für ganz besondere Bedürfnisse reserviert bleiben kann.

3. Als *Keilfüllung* diente in den meisten der Versuche eine passend gewählte alkoholische Lösung von reinem m-Nitrophenylhydroxylamin, dessen Darstellung früher<sup>2)</sup> beschrieben wurde. Die Lösung wird trotz Aufbewahrens unter Glaschliffverschluß im Dunkeln allmählich durch Zersetzung heller; der Keil kann aber dennoch relativ lange zur Benutzung dienen, wenn man ihn selbst jedesmal gegen eine frisch bereitete genau definierte (z. B. 1prom.) alkoholische Lösung einstellt. Fällt diese nun auf Teilstrich *a* der Skala des Keils, so berechnet sich der Gehalt an Milligrammen gelösten Nitrophenylhydroxylamins:  $x_0$  in 10 ccm einer beliebigen Versuchslösung entsprechend ihrer Verdünnung mit Alkohol auf das *n*-fache und ihrer Colorimeterzahl *x* nach folgender Formel:

$$x_0 = \frac{(100 - x) \cdot 10 n}{100 - a} \text{ mg Nitrophenylhydroxylamin.} \quad (1)$$

Die *prozentualen* Reduktionshemmungen resp. -Steigerungen werden nach der in der ersten Mitteilung<sup>3)</sup> angegebenen Formel ebenfalls direkt aus den Colorimeterzahlen unter Berücksichtigung des Verdünnungsgrades berechnet:

$$x_0 = \frac{100}{100 - a} (x_1 - a) \% \text{ Hemmung} \quad (2)$$

$$x_1 = n \left( x - 100 + \frac{100}{n} \right). \quad (2a)$$

*a* = Colorimeterzahl des Normalversuchs,

*n* = Verdünnungsgrad in dem zu vergleichenden Versuch gegenüber dem Normalversuch,

*x* = Colorimeterzahl des zu vergleichenden Versuchs,

$x_1$  = Colorimeterzahl des zu vergleichenden Versuchs nach Berücksichtigung des Verdünnungsgrades,

Ist der Verdünnungsgrad der Lösung des Normalversuchs und des Serienversuchs identisch, so wird  $x = x_1$  und Formel (2) direkt anwendbar.

4) Die Kohlensäurebestimmungen wurden nicht mit der eleganten *Warburg-Siebeck*schen Druckdifferenzmethode sondern mit dem mühsameren Baryttitrationsverfahren nach *Warburg-Dorner*<sup>4)</sup> ausgeführt; das hatte zwei Vorteile: einmal wurde in jedem Falle feststellbar, daß das entstandene Gas wirklich Kohlensäure

<sup>1)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **117**, 284. 1921.

<sup>2)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **109**, Heft 5. 1920; s. auch *K. Brand* u. *J. Steiner*, Ber. dtsh. Chem. Ges. **55**, 875, 1922.

<sup>3)</sup> loc. cit. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.

<sup>4)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **61**, 261. 1909; **81**, 202. **88**, 425. 1914.

war; zweitens konnte durch Zwischenschaltung einer  $\text{AgNO}_3$ -Waschflasche, die das  $\text{CO}_2$ -haltige Gasgemenge durchstrich, und Wägen von evtl. entstandenem  $\text{AgCN}$  die nach Beendigung des Atmungsversuchs noch vorhandene Blausäurekonzentration bestimmt werden, so daß der Einwand hinfällig wird, die Blausäure sei durch die Nitrokörper fortoxydiert worden, die  $\text{CO}_2$ -Produktion der Zellen habe also vielleicht erst nach Blausäurezerstörung stattgefunden. Methodische Einzelheiten in dem betreffenden Abschnitt.

### A. Mechanismus der Nitro-Atmung.

#### 1. Quantitative Bestimmung des Dehydrierungswasserstoffes atmender Froschmuskelzellen.

Reaktionsdauer 20 Stunden bei  $20^\circ$ . Willkürlicher Keil.

Ver- suchs- Nr.	Milieu	Verdünnungsgrad des Muskel- filtrats n =	Colori- meter- zahl	Reduktions- steigerung oder -hemmung in %	Gebildetes Nitrophen- Hydroxyl- amin mg
1	aq. dest.	4	57		20
		0,5 prom. Nitrophenyl- hydroxylaminlösung	59		
2	aq. dest. " " " " " "	2	40		24
		4	71		24
		2	45		22
		4	73		22
		2 prom. Testlösung	0		
3	aq. dest. NaCl 0,5% 0,75% 1,0% Frosch-Ringerlös.	2	54,5	0	21,4
		2	39	+34	28,7
		2	44	+23	26,1
		2	46,5	+17,5	25,1
		2	62	-16,5	17,9
		1 prom. Testlösung	57,5		
4	aq. dest. 0,01% $\text{CaCl}_2$	2	46	0	25,4
		2	70	-44,4	14,4
		1 prom. Testlösung	57,5		
5	0,6% NaCl dgl.u.0,08% $\text{CaCl}_2$	2	50	0	23,5
		2	77	-54	10,8
		1 prom. Testlösung	57,5		
6	aq. dest. NaCl 0,5% 1,0%	2	57,5	0	
		2	42	+36,5	
		2	52	+12,9	
7	aq. dest. 0,08% $\text{CaCl}_2$	2	47	0	24,9
		2	69,5	-42,5	14,4
		1 prom. Testlösung	57,5		
8	aq. dest. 1,5% $\text{K}_2\text{HPO}_4$	2	47	0	
		(5 Tropfen Essigsäure) 8	62	+186,8	

Ver- suchs- Nr.	Milieu	Ver- suchs- Dauer Std.	Verdünnungsgrad n =	Colori- meter- zahl	Gebildetes Nitrophe- nylhydro- xylamin mg
9	1,5% $K_2HPO_4$	2	(5 Tropfen Essigsäure) 2	59	20
		20	(5 " " " ) 4 0,5 prom. Testlösung	60 78,5	37,2
10	aq. dest.	4	4	84,5	13,8
		16	4	72,5	24,4
		16	Muskulatur und Lösung mit Äther erschöpfend extrahiert, Ätherextrakt a. Volum. 40 ccm		
			4	74,5	22,7
	1,5% $K_2HPO_4$ m. f. Muskelkochsaft	4	(5 Tropfen Essigsäure) 4	74,5	22,7
		16	dgl. 4 0,5 prom. Testlösung	67 77,5	29,3
11	ca. 1 proz. Na- triumphosphat- gemisch $p_H = 7,4$	20	4	54	30,6
			4	51	32,6
			1 prom. Testlösung 0,5 prom. Testlösung	40 69	
12	dgl.	20	4	60,5	49,4
		20	4 1 prom. Testlösung	56,5 68	54,4
13	"	20	4	67	41,2
		20	4 1 prom. Testlösung	67 68	41,2
14	aq. dest.	20	Probe + n-HCl + 0,5% Natriumnitrit; dazu 1 proz. alkoholische Lösung von $\alpha$ -Naphthol, die sodaalkalisch war; <i>Diazo-Reaktion</i> : (+). In die Hauptmenge des gelben Muskelfiltrats ( <i>Soda-Reaktion</i> : +++) werden wiederum 2 g Muskelzellen hineingeschnitten und 24 Std. stehen gelassen. Das nunmehr blaßgelbe Filtrat wie oben mit $\alpha$ -Naphthol geprüft; <i>Diazo- Reaktion</i> : +++. Filtratprobe mit Soda ver- setzt; <i>Soda-Reaktion</i> : -.		
			1,5% $K_2HPO_4$	Filtrat kräftig rotgelb: <i>Diazo-Reaktion</i> : ++; <i>Soda-Reaktion</i> : +++++.	

## 15. Methylenblau-Reduktionsversuch:

Es wurde reinstes chlorzinkfreies Methylenblau verwendet. 40 ccm einer 0,5 $\frac{0}{00}$ igen wässrigen Lösung, die gleichzeitig 0,25% Natriumphosphatgemisch ( $p_H = 7,4$ ) enthielt, wurde in einer 75 ccm-Saugflasche mit 12,5 g fein zerschnittener Frostmuskulatur vermischt.



Die Flasche wurde mit Stopfen verschlossen und evakuiert; gleichzeitig wurde bei Zimmertemperatur öfters kräftig durchgeschüttelt. Es wurde bald Entfärbung bemerkbar, die nach  $\frac{3}{4}$  Stunden immer rascher zu werden schien und nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden vollständig war. Dann wurde durch trockenes Filter abgossen; das Filtrat war nur schwach blaugrün gefärbt, ließ sich jedoch weder bei saurer noch alkalischer Reaktion spontan durch den Luftsauerstoff, noch durch 5proz. frisch bereitetes Wasserstoffsuperoxyd reoxydieren, noch bei schwach saurer Reaktion durch Eisenchlorid. Dagegen färbten sich die auf dem Filter liegenden Muskelteilchen von der Oberfläche her intensiv blau, gaben aber den Farbstoff auch nach Suspendierung in 2proz. Wasserstoffsuperoxyd nur zum kleinsten Teil wieder an das wässrige Medium ab.

*Ergebnis:* Der Reduktionsumfang von 2 g Froschmuskelzellen in 8–24 Stunden (ohne Unterschied; vgl. die Reduktionszeitkurve S. 484) beträgt 20–25 mg Nitrophenylhydroxylamin in destilliertem Wasser. In isotonischer NaCl-Lösung ist der Reduktionsumfang um 35% gesteigert, Gegenwart von 0,01%  $\text{CaCl}_2$  drückt ihn dagegen um 40–50% herab, so daß Ringerlösung kein günstiges Reaktionsmilieu darstellt. Die Reduktionsgeschwindigkeit schnellte in Phosphatlösungen stark empor; sowohl in 1,5proz.  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -Lösung als in Phosphatpuffergemisch von  $p_{\text{H}} = 7,4$  werden in 2–4 Stunden bereits 20 mg Nitrophenylhydroxylamin gebildet, in 8–24 Stunden ca. 40 mg. Die Steigerung in Phosphat gegenüber destilliertem Wasser beträgt also rund 100%. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Nitrophenylhydroxylaminbildung nur bei reichlichem *Überschuß* an reduzierbarem Dinitrobenzol ein eindeutiges Maß oxydo-reduktiver Zellprozesse ist, da sonst das Hydroxylamin selbst weiter bis zum schwächer gefärbten Amin reduziert wird; z. T. findet das bereits bei der hohen Reduktionsgeschwindigkeit in sekundärem Phosphat statt, kenntlich an dem Ausfall der Prüfung auf Azofarbstoffbildung mit  $\alpha$ -Naphthol. Daß es sich dabei aber in vorliegenden Versuchen noch um keinen sehr ins Gewicht fallenden Fehler handelt, zeigen im folgenden zu schildernde Bestimmungen der jeweils gebildeten Kohlensäuremenge, deren Werte in Phosphat gegenüber destilliertem Wasser entsprechend gesteigert sind.

Aus Versuch 10 geht übrigens auch hervor, daß das Herausdiffundieren des entstandenen Nitrophenylhydroxylamins aus den Muskelzellen in die Lösung so gut wie vollständig ist, da der Ätherextrakt des *gesamten* Reaktionsgemisches keinen höheren colorimetrischen Wert zeigte als das Muskelfiltrat selbst. Es ist bemerkenswert, daß bei der Nitroreduktion die Indicatorsubstanz eine hohe Zelllöslichkeit und minimale Wasserlöslichkeit besitzt, das Reduktionsprodukt dagegen äußerst schnell aus den Zellen in die wässrige Lösung diffundiert. Umgekehrt ist sowohl Methylenblau als seine Leukoverbindung in hohem

Maße an die Muskelzellen adsorbierbar; gleichwohl ist die Adsorptionsgeschwindigkeit aus einer 0,5 prom. Lösung nicht unmeßbar groß, da sonst die Muskelzellen von vornherein den Farbstoff unreduziert der Lösung hätten mehr oder weniger vollständig entziehen müssen. — Der Umfang oder die Geschwindigkeit der Methylenblaufärbung ist demnach kein getreues Maß für den Atmungsvorgang, sondern wird z. T. beherrscht von seiner noch ungenügend studierten Adsorptionsgeschwindigkeit an die Zellen, die ja von den verschiedensten Faktoren, u. a. der Farbstoffkonzentration in der Lösung, weitgehend abhängt.

## 2. Quantitative Bestimmung der anaerob gebildeten Behydrirkohlensäure.

Die *Warburgs*che Methode wurde in der von *Dorn*er beschriebenen Modifikation fast unverändert übernommen und gab Resultate, die an Genauigkeit den von den Verfassern angegebenen etwa entsprechen, wie aus folgenden Kontrollanalysen zu entnehmen ist.

Die verwendete phenolphthaleinhaltige Salzsäure war genau  $\frac{1}{100}$  normal; 10 ccm entsprachen demnach 2,2 mg Kohlensäure. Das verwendete Barytwasser war heiß hergestellt und filtriert; 10 ccm entsprachen 12,0 ccm  $\frac{n}{100}$ -Salzsäure. Die nach Durchleiten durch Kalilauge und Natronkalkröhren zum Übertreiben der Muskelgase verwendete Luft war kohlenstofffrei.

20 l gereinigte Luft durch Barytwasser geleitet. Titerabnahme entsprechend 0,15 ccm  $\frac{n}{100}$ -Säure = 0,033 mg  $\text{CO}_2$ . Die ungereinigte Luft enthielt dagegen erhebliche Mengen Kohlensäure; 600 ccm aus einem leeren Atmungskolben übergeleitet. Titerabnahme = 3,55 ccm  $\frac{n}{100}$ -Säure = 0,778 mg  $\text{CO}_2$ . Also 100 ccm enthalten 0,13 mg  $\text{CO}_2$ , was gleichfalls mit *Warburgs* Angaben übereinstimmt: „Etwa 0,1 mg.“ — Zur Prüfung der Methode wurde die  $\text{CO}_2$  einer gemessenen Menge reiner Sodalösung im Atmungskolben mit 10—15 ccm ausgekochter 20 proz. Schwefelsäure oder 10 proz. Phosphorsäure in Freiheit gesetzt und im Laufe einer Stunde mit 9 Litern kohlenstofffreier Luft übergetrieben. Die Sodalösung wurde durch Lösen von 0,4939 g Natriumcarbonat, das aus frisch gefälltem Bicarbonat dargestellt und im Platintiegel vorsichtig geglüht war, in 2 Litern ausgekochtem Wasser bereitet und vor  $\text{CO}_2$  geschützt in der üblichen Weise aufbewahrt. Ihr Gehalt war durch direkte Titration in der Hitze kontrolliert.

Angewandte Sodalösung ccm	Titerabnahme des $\text{Ba}(\text{OH})_2$ in ccm $\frac{n}{100}$ -Säure	mg $\text{CO}_2$ $\frac{\text{gefunden}}{\text{berechnet}}$
		1,073
10,0	4,88	1,024
		2,11
20,0	9,6	2,048
		2,107
20,0	9,58	2,048
		2,10
20,0	9,52	2,048
		2,15
20,0	9,75	2,048
		2,046
20,0	9,30	2,048

Weitere Kontrollversuche finden sich bei Gelegenheit der Blausäureversuche aufgeführt (S. 491).

Die Reduktionsversuche wurden bei Zimmertemperatur (20°) in Jenaer 500 ccm-Rundkolben mit evtl. verkürzten Hälsen ausgeführt, die mit fest schließenden, dreifach durchbohrten Gummistopfen versehen waren; durch die erste Bohrung führte ein Gaseinleitungsrohr bis fast auf den Boden des Kolbens; in der zweiten Bohrung saß ein Tropftrichter; die dritte nahm ein mit Tropfenfänger versehenes, kurz abgeschnittenes Ableitungsrohr auf. Beide Gasrohre waren an ihrem Ende mit auf Gasdichtheit geprüften Hähnen versehen, so daß der ganze Kolben leicht vollkommen verschlossen werden konnte. Auch die Warburgschen mit den Büretten und miteinander verbundenen Kohlensäure-Absorptionsgefäße waren an den freien Enden ihrer Gasleitungsrohre mit Hähnen versehen, so daß sie nach Spülung mit kohlenstofffreier Luft verschlossen mit dem Atmungskolben verbunden werden konnten, ohne Verunreinigung mit Luftkohlenstoff zu erleiden. Die größte Schwierigkeit bereitete die vollständige Entfernung des Sauerstoffs aus der relativ großen Muskelmasse<sup>1)</sup> und die möglichst weitgehende Eliminierung im Kolben befindlicher und präformierter Kohlensäure. Sie wurde in einem Teil der Versuche durch längeres Durchleiten von Wasserstoff durch das Gemisch von Muskeln, Wasser und Dinitrobenzol bezweckt, wobei natürlich nicht zu vermeiden war, daß währenddessen schon die Reduktion einsetzte, in den späteren Versuchen durch rasches Evakuieren der Kolben auf 60–100 mm Druck und darauf folgendes Auffüllen mit Wasserstoff durch das in die Flüssigkeit eintauchende Rohr.

Wie bei den im Abschnitt „Methodik“ beschriebenen Versuchen zur Bestimmung des Dehydrierungswasserstoffs wurde eine für je eine Versuchsröhre ausreichende Muskelmasse gemeinsam fein zerschnitten und in 2 g-Portionen geteilt. Diese wurden ohne Verlust in die Kolben überführt, mit 10 ccm Flüssigkeit und 0,2 g Dinitrobenzol vermischt und behandelt, wie bei den einzelnen Versuchen angegeben wird. Die Nitroatmung wurde jeweils in dem betreffenden Kolben unterbrochen, indem durch den Tropftrichter 10 ccm über Ätzkalk destillierter, vor Kohlensäure geschützt aufbewahrter Alkohol + 10 ccm 10proz. Phosphorsäure in den Kolben gegeben und nach Verschluß durch Schütteln mit den Muskeln gründlich vermischt wurden. Die Kohlensäurebestimmung wurde je nach der Zahl der Analysen am gleichen oder an einem der folgenden Tage ausgeführt; aus der Verzögerung ergaben sich keine Fehlerquellen.

Der Beginn der gemessenen Reduktionszeit wurde durch Abtötung der Zellen des Kontrollversuchs markiert, der also die „zu Versuchsbeginn präformierte Kohlensäuremenge“ ergab.

Die Brauchbarkeit der Versuchsanordnung wurde weiter durch angesetzte Kontrollen ohne Zufügung von Wasserstoffacceptor (Dinitrobenzol) geprüft: Wenn auch Zahlen für „anaerob“ gebildete Kohlen-

<sup>1)</sup> Gewisse Schwierigkeiten, den Sauerstoff vollständig auszuschließen, zeigten sich schon Meyerhof bei Verwendung der vierfach kleineren Muskelmenge. (Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 115, 1/2, 37, 1919).

säure mitunter gefunden wurden, die schon außerhalb der Fehlergrenzen der Analysenmethode lagen, so wurde die Bedeutung der erhaltenen Werte von Dehydrierungs-CO<sub>2</sub> dadurch kaum beeinträchtigt. Besonders klar erscheint die Beziehung von Dehydrierungskohlensäure zu Dehydrierungswasserstoff beim Betrachten der beiden weitgehend parallel verlaufenden Zeitkurven. Die letzte Sicherheit geben weiter die Kohlensäurebestimmungen an HCN-vergifteten Zellen, bei denen die Notwendigkeit eines vollständigen Entfernens von gasförmigem Sauerstoff entfällt, weil dieser ja unter Blausäure nicht verwertet wird; demgemäß wurde bei diesen Versuchen in Abwesenheit von Dinitrobenzol keine Bildung von Kohlensäure beobachtet.

1. Versuch (Kurve 2a): Fünf Atmungskolben je mit 2,0 g Muskulatur und 10 ccm Wasser beschickt und 45 Minuten mit reinem Wasserstoff durchperlt, dann Kolben 2—5 kurz geöffnet und mit 0,2 g Dinitrobenzol versetzt, alle Kolben nochmals 1 Stunde lang mit Wasserstoff durchperlt und verschlossen. Kolben 2 durch den Tropftrichter sofort mit Alkohol und Phosphorsäure versetzt: präformierte CO<sub>2</sub>; Kolben 3 nach 2 Stunden, 4 nach 4 Stunden, 5 und 1 nach 8 Stunden.

Kolben	Titerabnahme des Ba(OH) <sub>2</sub> in ccm $\frac{n}{100}$ -Säure	mg CO <sub>2</sub>
1	2,26	0,497
2	1,3	0,286
3	2,75	0,605
4	3,15	0,693
5	4,25	0,935
Produzierte <i>Dehydrierungs</i> kohlensäure in		
	2 <sup>h</sup>	0,319 mg,
	4 <sup>h</sup>	0,407 mg,
	8 <sup>h</sup>	0,649 mg,
	„anaerob“	8 <sup>h</sup> 0,211 mg.

2. Versuch (Kurve 2b): Sechs Atmungskolben mit je 2 g Muskulatur, 10 ccm destilliertem Wasser und (Kolben 4—6) 0,2 g Dinitrobenzol versetzt, gemeinsam auf 100 mm Druck evakuiert und mit Wasserstoff gefüllt. Dauer 1 Stunde. Reduktion schon recht deutlich. Kolben 1 und 4 sofort mit Alkohol und Phosphorsäure versetzt, 2 und 5 nach 4 Stunden, 3 und 6 nach 8 Stunden.

Kolben	Titerabnahme des Ba(OH) <sub>2</sub> in ccm $\frac{n}{100}$ -Säure	mg CO <sub>2</sub>
1	4,35	0,957
2	4,7	1,034
3	4,55	1,001
4	4,3	0,946
5	6,25	1,375
6	6,5	1,43
Produzierte <i>Dehydrierungs</i> kohlensäure in		
	4 <sup>h</sup>	0,429 mg,
	8 <sup>h</sup>	0,484 mg,
	„anaerob“	4 <sup>h</sup> 0,077 mg,
	„anaerob“	8 <sup>h</sup> 0,044 mg.

3. Versuch (Kurve 2c): Sechs Atmungskolben mit Muskulatur, 10 ccm Flüssigkeit und evtl. 0,2 g Dinitrobenzol beschickt und gemeinsam in 30 Minuten auf 170 mm Druck evakuiert, danach in weiteren 30 Minuten mit Wasserstoff gefüllt.

Kolben 1 enthält destilliertes Wasser,

Kolben 2 enthält destilliertes Wasser mit Dinitrobenzol,

Kolben 3 enthält Muskelkochsft<sup>1)</sup> und 0,15 g  $K_2HPO_4$  und Dinitrobenzol.

Kolben 4 enthält destilliertes Wasser mit Dinitrobenzol,

Kolben 5 enthält destilliertes Wasser mit Dinitrobenzol,

Kolben 6 enthält destilliertes Wasser.

Kolben 1 und 2 sofort mit Alkohol und Phosphorsäure versetzt, 3 und 4 nach 8 Stunden, 5 und 6 nach 24 Stunden.

Kolben	Titerabnahme des $Ba(OH)_2$ in ccm $n/100$ -Säure	mg $CO_2$
1	4,9	1,078
2	5,0	1,1
3	11,19	2,462
4	7,55	1,661
5	8,25	1,815
6	5,40	1,188

Produzierte *Dehydrierungs*kohlensäure in Phosphatkochsft in 8<sup>h</sup>: 1,362 mg,  
in destilliertem Wasser 8<sup>h</sup>: 0,561 mg,  
in destilliertem Wasser 24<sup>h</sup>: 0,715 mg,  
„anaerob“ in destilliertem Wasser 24<sup>h</sup>: 0,11 mg.

4. Versuch (Kurve 2d): Vier Atmungskolben enthalten je 10 ccm 1,5 proz.  $K_2HPO_4$ -Muskelkochsft<sup>1)</sup>, 3 und 4 noch je 0,2 g Dinitrobenzol; sie werden gemeinsam 45 Minuten lang kräftig mit Wasserstoff durchperlt, dann werden die Muskelportionen zugefügt, und es wird nochmals während 15 Minuten Wasserstoff hindurchgeleitet. Währenddessen setzt bereits die Reduktion ein. Kolben 1 und 3 sogleich mit Alkohol und Phosphorsäure versetzt, Kolben 2 und 4 nach 11 Stunden.

Kolben	Titerabnahme des $Ba(OH)_2$ in ccm $n/100$ -Säure	mg $CO_2$
1	1,6	0,352
2	2,85	0,627
3	1,05	0,231
4	5,75	1,265

Produzierte *Dehydrierungs*kohlensäure in Phosphatkochsft in 11<sup>h</sup>: 1,034 mg,  
„anaerob“ in 11<sup>h</sup>: 0,275 mg.

5. Versuch (Kurve 2e): Vier Kolben mit 10 ccm Phosphatmuskelkochsft und 2 g Muskulatur beschickt, 50 Minuten gemeinsam mit Wasserstoff durchperlt; Kolben 1 und 3 mit Dinitrobenzol versetzt, 2 und 4 aber ebenso lange (ca.  $\frac{1}{2}$  Minute) geöffnet; dann alle gemeinsam weitere 30 Minuten mit Wasserstoff behandelt. Kolben 1 und 2 sofort mit Alkohol und Phosphorsäure versetzt, 3 und 4 nach 11 Stunden.

<sup>1)</sup> Aus gleichen Teilen Muskulatur und Wasser durch kurzes Kochen und Filtrieren bereitet.

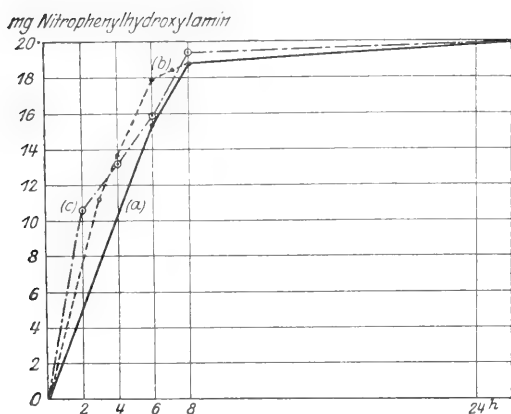
Kolben	Titerabnahme des Ba(OH) <sub>2</sub> in cem $\frac{v}{100}$ -Säure	mg CO <sub>2</sub>
1	1,65	0,363
2	0,78	0,172
3	7,9	1,738
4	2,8	0,616

Produzierte *Dehydrierungs*kohlensäure in Phosphatkochsaft in 11<sup>h</sup>: 1,375 mg,  
„anaerob“ in 11<sup>h</sup>: 0,444 mg.

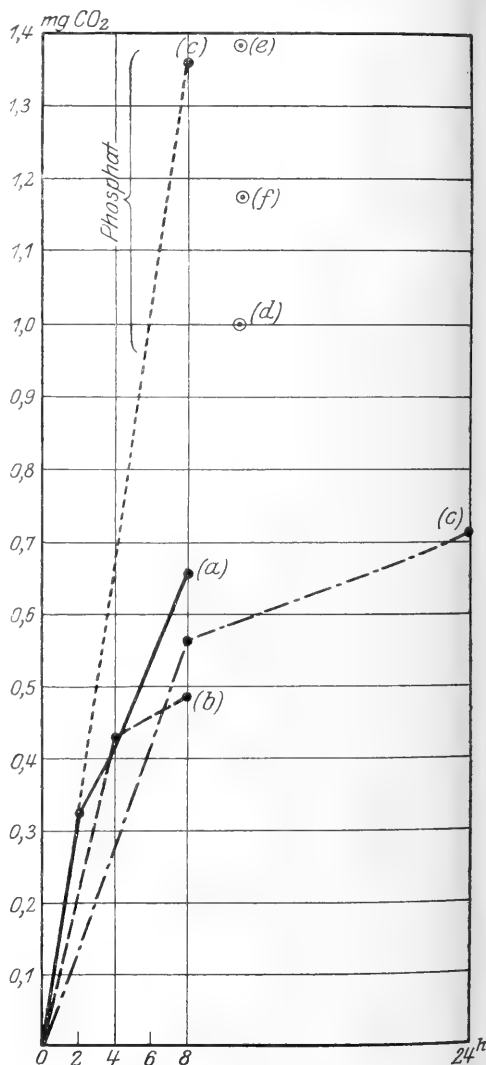
6. Versuch (Kurve 2f): Muskelkochsaft durch Auskochen von feinzerschnittener Muskulatur mit der gleichen Menge 1,5proz. K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung und Filtrieren dargestellt. — Zwei Atmungskolben mit Muskulatur, Kochsaft und Dinitrobenzol beschiebt und 15 Minuten mit einem möglichst kräftigen Wasserstoffstrom luftfrei gemacht. Die Reduktion ist unterdessen schon deutlich. Kolben 1 sofort, 2 nach 11 Stunden mit Alkohol und Phosphorsäure versetzt.

Kolben	Titerabnahme des Ba(OH) <sub>2</sub> in cem $\frac{v}{100}$ -Säure	mg CO <sub>2</sub>
1	2,9	0,638
2	8,25	1,815

Produzierte *Dehydrierungs*kohlensäure in 11<sup>h</sup>: 1,177 mg.



Kurve 1. Zeitkurve des Dehydrierungswasserstoffes (vgl. dieses Arch. 191, 10!)



Kurve 2. Zeitkurve der Dehydrierungskohlensäure.

Respiratorischer Quotient: 0,1—0,11.

**3. Prüfung auf Bildung unvollständig verbrannter Produkte der Milchsäure.**

Diese Untersuchung hatte nicht den gewünschten Erfolg, größere Mengen eines intermediären Stoffwechselproduktes der Kohlenhydratverbrennung zu isolieren; nur wurden mehrfach kleine Mengen einer flüchtigen, jodoformgebenden Substanz nachgewiesen, die ammoniakalische Silberlösung reduzierte und den Titer von Kaliumbisulfit herabsetzte, also wohl als Acetaldehyd anzusprechen ist. Wegen der sehr kleinen gefundenen Mengen, die keine Erklärung für den niedrigen respiratorischen Quotienten und den Umfang der Milchsäuredehydrirung geben konnten, wurde auf den exakteren Nachweis des Aldehyds mit Hilfe umfangreicherer Reduktionsversuche verzichtet.

Versuche: Reinstes, aus Alkohol umkristallisiertes Dinitrobenzol wurde viele Stunden lang bei 12 mm Druck und  $78^{\circ}$  über Phosphor-pentoxyd getrocknet, dann gepulvert.

1. 150 ccm Wasser, das 4 g reinstes  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{aq}$  enthielt, wurde im Atmungskolben ausgekocht und im Wasserstoffstrom abgekühlt, mit 3 g Dinitrobenzol versetzt und weiter mit Gas durchperlt. Dann wurden 30 g Froschmuskulatur fein zerschnitten, dem Gemisch zugefügt, noch  $\frac{1}{2}$  Stunde mit Wasserstoff durchperlt und schließlich bei geschlossenem Gasableitungsrohr unter Wasserstoffdruck gehalten. Unter diesen Umständen setzt die Reduktion in wenigen Minuten ein. Nach 7 Stunden Zusatz von 50 ccm n-Salzsäure durch den Tropftrichter; nach einer weiteren Viertelstunde Zusatz von 30 ccm gesättigter Lösung von mehrfach aus Wasser krystallisiertem Sublimat. Nach 20 Stunden wird unter Eiskühlung rasch filtriert und das gelbe Filtrat nach Zusatz von Tonstückchen unter Verwendung eines hohen Destillationsaufsatzes und eines Schlangenkühlers mit in die Vorlage tief eintauchendem Vorstoß vorsichtig über freier Flamme destilliert. Die Vorlage bestand aus einem gründlich vorgekühlten mit Schliff versehenen Meßzylinder, der 10 ccm eiskaltes Wasser enthielt. Es wurden 30 ccm farbloses Destillat aufgefangen, das auf Lackmus sehr schwach sauer reagierte. Die Hälfte des Zylinderinhalts, 20 ccm, wurde mit 20 ccm ca.  $\frac{n}{40}$ - $\text{KHSO}_3$ -Lösung versetzt und  $\frac{1}{2}$  Stunde bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Rücktitration der  $\text{KHSO}_3$ -Lösung ergab 20,30 ccm  $\frac{n}{40}$ -Jod, während 20,0 ccm  $\text{KHSO}_3$  bei mehrfacher Titrierung 20,65 ccm Jod verbrauchten. Das Gesamtdestillat von 40 ccm enthielt also 0,35 mg auf Aldehyd berechnet. Die andere Hälfte des Destillats diente zu folgenden Reaktionen: Eine Probe mit Jod und Kalilauge versetzt, zeigte in der Kälte Jodoformgeruch und nach einigem Stehen die charakteristischen Krystalle. Die *Rimini*sche Reaktion und die Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure fielen nach kurzem Stehen noch negativ aus, nach 48 Stunden Stehens unter Verschuß waren beide deutlich positiv (gelbrot und hellviolett), während Kontrollen mit destilliertem Wasser völlig negativ blieben.

Eine vierte Probe zeigte mit ammoniakalischer Silberlösung bei leichtem Anwärmen Dunkelfärbung, die auch bei Überschuß an Ammoniak bestehen blieb und ohne Zusatz von Destillat nicht eintrat.

2. Ein zweiter Versuch ganz entsprechend angesetzt. Als Vorlage der ersten Destillation diente diesmal  $n_{/20}$ -KHSO<sub>3</sub>-Lösung. Diese wurde nach beendeter Destillation mit überschüssigem Calciumcarbonat (nach *Neuberg*) versetzt und nochmals destilliert. Es wurde 20 ccm ca.  $n_{/40}$ -KHSO<sub>3</sub>-Lösung, mit 50 ccm H<sub>2</sub>O verdünnt und eisgekühlt, vorgelegt. Danach betrug der Titer statt 18,0 ccm nur mehr 17,40 ccm  $n_{/40}$ -Jod: 0,6 ccm  $n_{/40}$ -Jod = 0,3 mg Aldehyd.

3. Reduktionsversuch mit den doppelten Mengen Muskulatur, Dinitrobenzol und Phosphatlösung. Destillat in Wasser aufgefangen: 80 ccm. 40 ccm Destillat +  $n_{/50}$ -KHSO<sub>3</sub>: Titerabnahme von 1,0 ccm  $n_{/50}$  Jod. *Gesamtaldehydmenge: 0,8 mg.*

Qualitative Reaktionen: Jodoformtrübung in der Kälte nach 1 Minute und Abscheidung charakteristischer Krystalle; mit ammoniakalischer Silberlösung: Dunkelfärbung; mit essigsauerm p-Nitrophenylhydrazin: Trübung ohne deutliche Krystallisation.

4. Reduktionsversuch mit 30 g Muskulatur. Diesmal wurde das saure gelbe Filtrat von der Sublimatfällung sofort mit CaCO<sub>3</sub> versetzt und in  $1_{/20}$  n-KHSO<sub>3</sub> hineindestilliert, bis ein Fünftel des Filtrats übergegangen war.

Titerabnahme 0 ccm  $n_{/20}$  Jod. *Aldehydmenge: 0.*

Demnach scheint der Aldehyd erst durch Erhitzen in saurer Lösung freigemacht zu werden.

## B. Mechanismus der Blausäurewirkung.

### 1. Messung des Dehydrierungswasserstoffes blausäurevergifteter Muskelzellen.

#### a) HCN-Konzentrationskurven.

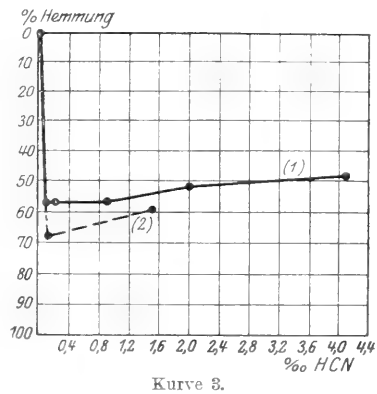
1. Ca. 2proz. wässrige HCN-Lösung (*Merck DAB.*) mit  $n_{/2}$ -Kalilauge neutralisiert, verdünnt und titriert. Je 10 ccm Lösung, 2 g Muskulatur und 0,2 g Dinitrobenzol. Nach 24 Stunden filtriert, mit Alkohol 2fach verdünnt und wieder filtriert.

HCN-Konzentration ‰	Colorimeter- zahl	Reduktionshemmung %	Nitrophenylhydroxylamin mg
0	11	0	18,16
0,1175	61,5	57	7,85
0,2125	62	57,3	7,75
0,935	61,5	57	7,85
2,0	57	51,7	8,8
4,1	54	48,3	9,4
0,5 prom. Nitro- phenylhydroxyl- aminlösung	51		



2. 6 prom. mit 1 Tropfen  $n/2$ -KOH neutralisierte HCN-Lösung (titriert), entsprechend verdünnt. Muskelfiltrate (nach 24stündiger Reaktionsdauer) mit Alkohol 4fach verdünnt.

HCN-Konzentration ‰	Colorimeterzahl	Reduktionshemmung %	Nitrophenylhydroxylamin mg
0	59,5	0	18
0,15	87	67,9	5,8
1,5	83,5	59,2	7,56



3. Milieu: 1,5 proz.  $K_2HPO_4$ -Lösung, die gleichzeitig einen Gehalt von  $a/100$  HCN (nicht neutralisiert) hat; in dieser Lösung 2 g Muskulatur suspendiert, erst nach  $1/4$  Stunde Zusatz von 0,2 g Dinitrobenzol. Reduktionsdauer 2 Stunden; dann Zusatz von je 5 Tropfen 15 proz. Essigsäure, filtriert, Verdünnung mit Alkohol 2fach.

HCN-Konzentration ‰	Colorimeterzahl	Reduktionshemmung %	Nitrophenylhydroxylamin mg
0	68,5	0	36
0,5	80,5	38,1	22,3
5,0	90	68,2	11,4

1 prom. Nitrophenylhydroxylaminlösung 83  
 2 prom. Nitrophenylhydroxylaminlösung 65

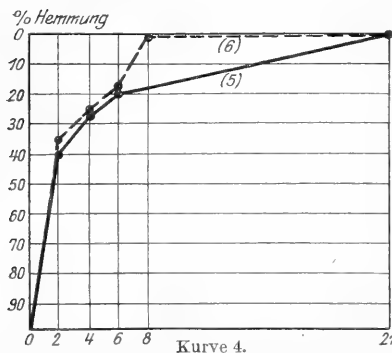
4. Wiederholung. Reduktionsdauer 5 Stunden. Zusatz von je 5 Tropfen Essigsäure. Verdünnung mit Alkohol 4fach.

HCN-Konzentration ‰	Colorimeterzahl	Reduktionshemmung %
0	15	0
0,05	63,5	57
0,11	65	58,8
1,25	68	62,5
5,0	78	74,1

b) Reduktionszeitkurve unter HCN.

5. HCN-Konzentration  $0,2/100$  (nicht neutralisiert). Zusatz des Dinitrobenzol unmittelbar nach Suspendierung der Muskulatur in der Lösung; keine Verdünnung der Muskelfiltrate.

Reduktionsdauer Std.	Colorimeter- zahl	Reduktionshemmung %	Nitrophenylhydroxylamin mg
2	87,5	42,3	1,73
4	84,5	28,3	2,15
6	83	21,3	2,36
21	78,5	0	3,0
0,5 prom. Testlösung	64		



### 6. Wiederholung. HCN-Konzentration 0,2<sup>0</sup>/<sub>100</sub>.

Reduktionsdauer Std.	Colorimeter- zahl	Reduktionshemmung %	Nitrophenylhydroxylamin mg
2	82	36,8	2,46
4	79	26,3	2,87
6	77	19,2	3,15
8	72	0,2	3,83
21	71,5	0	3,9
0,5 prom. Testlösung	63,5		

c) Bedeutung der Einwirkungsdauer der Blausäure auf die Zellen vor Beginn der Reaktion mit dem Dinitrobenzol. (Reihenfolgeversuche.)

7. 2 g Muskulatur + 5 ccm H<sub>2</sub>O + 0,2 g Dinitrobenzol; nach 30 Minuten Zusatz von 5 ccm HCN von a<sup>0</sup>/<sub>100</sub>.

Muskulatur + 10 ccm HCN von  $\frac{a}{2}$  <sup>0</sup>/<sub>100</sub>; nach 30 Minuten Zusatz von Dinitrobenzol.

Reduktionszeit 20 Stunden. Verdünnung mit Alkohol 2fach.

HCN-Endkonzentration % <sub>100</sub>	Colorimeter- zahl	Hemmung %	Colorimeter- zahl	Hemmung %
0	10	0	9	0
0,1	68	64,4	90	89
0,5	67,5	63,9	90	89
5,0	64,5	60,55	84,5	83

8. 2 g Muskulatur in 10 ccm HCN + 0,2 g Dinitrobenzol sofort.

Dasselbe; jedoch Zusatz des Dinitrobenzol erst nach 30 Min.

Reduktionszeit 21 Stunden.

A				B		
HCN-Endkonzentration % <sub>100</sub>	Colorimeter- zahl	Hemmung in %	mg	Colorimeter- zahl	Hemmung in % <sub>100</sub> bezogen auf A	mg Nitrophenyl- hydroxylamin
0 (Verdünnung 4 fach)	52,5	0	26,4	59,5	14,8	22,5
0,2 (Verdünnung 1 fach)	78,5	0	3,0	83	21,3	2,36
0,5 prom. Testlösung	63,5					
9.						
0 (Verdünnung 4 fach)	45	0	30,4	55	18,2	24,65
0,2 (Verdünnung 1 fach)	71,5	0	3,9	79	26,3	2,87
0,5 prom. Testlösung	63,5					

Die Hemmungswirkung der Blausäure auf die Zellreduktion ist progressiv mit der Einwirkungsdauer.

Es scheint von Interesse, daran zu erinnern, daß schon *Overton*<sup>1)</sup> in Versuchen an Kaulquappen diese progressive Wirkung der Blausäure festgestellt und als gegensätzlich zu der Wirkung allgemeiner Narcotica betrachtet hat. Nach *Overton* deutet die progressive Natur der Wirkung darauf hin, daß zwischen der betreffenden Substanz und einem Bestandteil des Protoplasmas eine langsam ablaufende chemische Reaktion stattfindet.

d) Wirkung von Neutralsalz auf die Reduktion der blausäurevergifteten Muskelzellen.

(Vgl. Absatz A,1 Versuch 3—6, S. 477 dieser Arbeit!)

Reduktionsdauer 20 Stunden, Verdünnungsgrad 2 fach.

HCN-Konz. ‰	Neutralsalz %	Colorimeterzahl	Reduktionshemmg. oder -Steigerung in Prozenten	Gebildet. Nitrophenylhydroxylamin in mg
1) 0	0	55	0	19,56
				bezogen auf:
0,25	0	82	-60	0
—	NaCl 0,1	78	-51,1	+22,25
—	„ 0,2	74,5	-43,3	+41,7
—	„ 0,5	74	-42,2	+44,5
—	KCl 0,1	77,5	-50	+25
—	„ 0,2	74	-42,2	+44,5

1‰ ige Nitrophenylhydroxylaminlösung = 54

2) 0	0	46	0	21,2
				bezogen auf:
0,21	0	78	-59,3	0
—	NaCl 0,2	71	-46,3	+31,94
—	„ 0,5	68,5	-41,6	+43,49
—	KCl 0,2	72	-48,1	+27,5
—	„ 0,5	67,5	-39,8	+48

1‰ ige Nitrophenylhydroxylaminlösung = 49

3) 0	0	57,5	0	
				bezogen auf:
0,21	0	89,5	-75,3	0
—	NaCl 0,25	85,5	-65,5	+38,46
—	„ 0,5	85	-64,7	+42,91
—	„ 1,0	89	-74	+5,2

<sup>1)</sup> Studien über die Narkose. Jena. G. Fischer 1901, S. 75 und 105.

Das Reduktionsvermögen der HCN-vergifteten Zellen — ebenso wie der unvergifteten — steigt mit dem Gehalt der Lösung an Neutral-salz (NaCl und KCl ohne wesentliche Verschiedenheit) bis zur isotonischen Konzentration um 40% an.

## 2. Messung der Dehydrierungskohlensäure bei HCN-Vergiftung.

Die Trennung der veratmeten Kohlensäure von der Blausäure verläuft quantitativ, wenn man das Gasgemisch vor Erreichen der Baryt-absorptionsgefäße durch eine Waschflasche mit 10proz. Silbernitrat-lösung leitet, die gleichzeitig 2% reine Salpetersäure enthält. Unter diesen Bedingungen wird die Blausäure quantitativ als  $\text{AgCN}$  gefällt, während die Kohlensäure ohne Verlust passiert. Zur Sicherheit wurde jedoch hinter die Silbernitratflasche noch eine *Walthersche* Gaswaschflasche mit der gleichen Lösung geschaltet, so daß ein Entweichen von Cyanwasserstoff unmöglich wurde. Doch blieb diese zweite Waschflasche stets frei von Silbercyanür. Das gefällte Silbersalz konnte durch Abfiltrieren, gründliches Auswaschen und Trocknen bei  $110^\circ$  quantitativ gleichzeitig mit der Kohlensäure bestimmt werden. Im übrigen wurden die Zelldehydrierungsversuche ganz entsprechend den im Abschnitt A, 2 S. 480 geschilderten angestellt. Nur wurden die Muskeln mit dem Dinitrobenzol in den Atmungskolben in 5 ccm Wasser (resp. Phosphatlösung) suspendiert, und es wurde erst nach dem Evakuieren und Wasserstoffdurchleiten durch den Tropftrichter 2,5 ccm HCN zugefügt und mit 2,5 ccm Wasser nachgespült, damit keine HCN-Verluste eintraten. Da im Abschnitt B, 1 c S. 480 festgestellt wurde, daß die Blausäurewirkung auf die Zellen *progressiv* verläuft, und speziell, daß die Reduktionshemmung geringer ist, wenn die Zellen eine Zeitlang mit dem Dinitrobenzol in Berührung waren, ehe Blausäure auf sie einwirkte, als umgekehrt, lassen sich die Blausäurehemmungskurven der  $\text{CO}_2$ -Produktion nicht genau mit den unter anderen Bedingungen gewonnenen des Dehydrierungswasserstoffes vergleichen, wie etwa die früher dargestellten Zeitkurven beider Funktionen; es ergab sich trotzdem kein Anhaltspunkt dafür, daß der respiratorische Quotient des Wasserstoffakzeptors Dinitrobenzol von 0,1—0,15 sich unter HCN etwa wesentlich verschiebt. Das wichtigste Ergebnis jedenfalls ist eindeutig, daß unter HCN Dehydrierungskohlensäure gebildet wird, während nach *Warburg* und *Meyerhof* die Atmung sistiert.

### *Bestimmung von Kohlensäure aus einem Gemisch mit Blausäure.*

Die verwendete Sodalösung enthielt 2,2 mg  $\text{CO}_2$  in 20 ccm. Die verwendete HCN-Lösung war ca. 2proz. (D. A. B. Merck); KCN war unbrauchbar, weil es erhebliche Mengen Carbonat enthielt. Aus der vor Luft geschützten Bürette wurde Sodalösung in den Kolben gegeben, der mit den beiden Silbernitratflaschen und den  $\text{CO}_2$ -Absorptionsgefäßen verbunden war, der Apparat wurde mit kohlen-

säurefreier Luft gespült, die Barytlauge eingefüllt, schließlich durch den Tropftrichter des Atmungskolbens HCN und 15 ccm 20 proz. Schwefelsäure oder 10 ccm 10 proz. Phosphorsäure hineingelassen und das Gasgemisch mit 9 Litern Luft übergetrieben.

Sodalösung ccm	2% HCN ccm	Titerabnahme des Ba(OH) <sub>2</sub> in ccm $\frac{n}{100}$ -Säure	mg CO <sub>2</sub> gef. ber.
0	10	0,43	<u>0,095</u> 0
5	5	2,1	<u>0,462</u> 0,512
10	5	4,76	<u>1,047</u> 1,024
10	5	4,82	<u>1,06</u> 1,024
14	5	6,67	<u>1,467</u> 1,434
15	5	7,12	<u>1,566</u> 1,536
20	5	9,35	<u>2,057</u> 2,048
20,5	5	9,2	<u>2,024</u> 2,099
30	5	12,49	<u>2,748</u> <sup>1)</sup> 3,072
30	5	13,34	<u>2,935</u> 3,072

#### Zellversuche.

1. Vier Atmungskolben mit je 2 g Muskulatur, 0,2 g Dinitrobenzol und 5 ccm destilliertem Wasser beschickt, gemeinsam auf 100 mm Druck evakuiert und mit Wasserstoff gefüllt; Dauer 30 Minuten. Dann durch Tropftrichter je 2,5 ccm HCN und mit noch 2,5 ccm Wasser nachgespült. Die HCN-Stammlösung wurde mit 1 Tropfen  $\frac{n}{2}$ -Kalilauge, die CO<sub>2</sub>-frei war, neutralisiert. HCN-Konzentration im Tropftrichter 1: 0, 2: 0,086%, 3 und 4: 0,86%. Kolben 4 sofort mit je 10 ccm Alkohol + 10 ccm Phosphorsäure versetzt; Zellen darin abgetötet, Kolben 1 bis 3 erst nach 9 Stunden.

Kolben	HCN-Konzentration in ‰		Titerabnahme des Ba(OH) <sub>2</sub> in ccm $\frac{n}{100}$ -Säure	mg CO <sub>2</sub>
	zu Beginn	wiedergefunden		
1	0	0	8,0	1,76
2	0,215	Spur	7,0	1,54
3	2,15	0,92	6,77	1,489
4	2,15	1,38	5,9	1,298

<sup>1)</sup> Da hier wohl ein Analysenfehler vorlag, wurde die Bestimmung wiederholt.

HCN-Konzentration in ‰	Dehydrierungs-CO <sub>2</sub> in 9 <sup>h</sup> mg
0	0,462
0,215	0,242
2,15	0,191

2. Fünf Atmungskolben wie oben auf 75 mm Druck evakuiert und mit Wasserstoff gefüllt. Dauer 30 Minuten. Dann durch Tropftrichter 2,5 ccm HCN + 2,5 ccm Wasser. Kolben 1 und 2 enthält kein Dinitrobenzol und 2,15<sup>0/100</sup> HCN, Kolben 3—5 enthält 0,2 g Dinitrobenzol und HCN. Die Zellen in Kolben 1 und 3 mit Alkohol und Phosphorsäure sofort abgetötet, in den übrigen Kolben nach 12 Stunden.

Kolben	HCN-Konzentration ‰		Titerabnahme des Ba(OH) <sub>2</sub> in ccm $\frac{n}{100}$ -Säure	mg CO <sub>2</sub>
	zu Beginn	wiedergefunden		
1	2,15	nicht bestimmt	4,41	0,97
2	2,15	nicht bestimmt	4,80	1,056
3	2,15	1,47	5,37	1,181
4	2,15	1,55	6,71	1,476
5	0,215	0,2	7,9	1,738

HCN-Konzentration in ‰	Dehydrierungs-CO <sub>2</sub> in 12 <sup>h</sup> mg
0,215	0,557
2,15	0,295
2,15	„anaerob“ 0,086

3. Sechs Atmungskolben wie oben in 50 Minuten auf 80 mm Druck evakuiert und mit Wasserstoff gefüllt. Die Zellen in Kolben 1 sofort abgetötet. Reduktionsdauer in den übrigen 10 Stunden. Die mit 1 Tropfen  $\frac{n}{2}$ -KOH neutralisierte HCN-Stammflösung war 16,4 prom.

Kolben	HCN-Konzentration ‰		Titerabnahme des Ba(OH) <sub>2</sub> in ccm $\frac{n}{100}$ -Säure	mg CO <sub>2</sub>
	zu Beginn	wiedergefunden		
1	4,1	4,75	2,9	0,638
2	4,1	4,2	3,86	0,849
3	2,0	2,29	4,9	1,078
4	1,0	1,23	5,85	1,287
5	0,213	0,24	5,75	1,265
6	0	0	6,4	1,408

HCN-Konzentration ‰	Dehydrierungskohlensäure in 10 <sup>h</sup> mg
0	0,77
0,213	0,627
1,0	0,649
2,0	0,44
4,1	0,211

4. Sieben Atmungskolben wie oben auf 75 mm Druck evakuiert und mit Wasserstoff gefüllt; Dauer 35 Minuten. Kolben 5 enthält kein Dinitrobenzol und 1,02<sup>0/100</sup> HCN, alle übrigen enthalten Dinitrobenzol, Kolben 1 wird sofort mit Alkohol und Phosphorsäure fixiert, alle übrigen nach 9<sup>1/2</sup> Stunden.

Kolben	HCN-Konzentration ‰		Titerabnahme des Ba(OH) <sub>2</sub> in cem n/100-Säure	mg CO <sub>2</sub>
	zu Beginn	wiedergefunden		
1	4,1	nicht bestimmt	2,65	0,583
2	4,1	3,65	5,15	1,133
3	2,0	nicht bestimmt	4,8	1,056
4	0,25	„ „	5,1	1,122
5	0,25	„ „	2,45	0,539
6	0,142	„ „	5,1	1,122
7	0	„ „	5,4	1,188

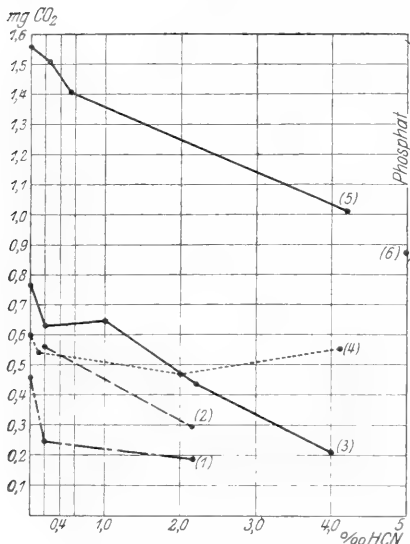
HCN-Konzentration ‰	Dehydrierungskohlensäure in 9 1/2 h mg
0	0,6
0,142	0,539
0,25	0,539
2,0	0,473
4,1	0,55
0,25 „anaerob“	0 (—0,04)

5. Versuch in *optimalem* Milieu: Sieben Atmungskolben mit Muskulatur und je 5 cem 1,5proz. K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Muskelkochsaft beschickt und gemeinsam auf 100 mm Druck evakuiert und mit Wasserstoff gefüllt. Dauer 35 Minuten. Zusatz von 2,5 cem Blausäure oder destilliertem Wasser durch den Tropftrichter und wieder nachgespült mit 2,5 cem Phosphat-Kochsaft. Kolben 1 und 2 enthalten kein Dinitrobenzol, Kolben 1 und 3 sofort fixiert, alle übrigen nach 8 Stunden.

Kolben	HCN-Konzentration in ‰		Titerabnahme des Ba(OH) <sub>2</sub> in cem n/100-Säure	mg CO <sub>2</sub>
	zu Beginn	wiedergefunden		
1	0,25	nicht bestimmt	4,0	0,88
2	0,25	nicht bestimmt	4,3	0,946
3	4,2	(reichlich) nicht bestimmt	2,45	0,539
4	0	0	9,55	2,101
5	0,25	nicht bestimmt	9,3	2,046
6	0,55	0,34	8,85	1,947
7	4,2	3,75	7,35	1,617

HCN-Konzentration ‰	Dehydrierungskohlensäure in 8 Std. in Phosphat-Kochsaft mg
0	1,562
0,25	1,507
0,55	1,408
4,2	1,078
0,25 „anaerob“	0,066

6. Versuch in *optimalem* Milieu: Vier Atmungskolben wie oben beschickt und 30 Minuten mit Wasserstoff durchperlt. Kolben 1 und 3 enthalten 0,2 g Dinitrobenzol, 2 und 4 keines. Zusatz von je 2,5 cem 2% HCN (*Merck DAB*) durch alle vier Tropftrichter, mit 2,5 cem Phos-



Kurve 5.

phat-Kochsaft nachgespült. Die Reduktion setzt in 1 und 3 bereits ein. Kolben 1 und 2 mit Alkohol und Phosphorsäure sofort fixiert, 3 und 4 nach 11½ Stunden. Bei allen vier CO<sub>2</sub>-Analysen reichlicher Niederschlag von AgCN. HCN-Endkonzentration überall 5<sup>0</sup>/<sub>100</sub>.

Kolben	Titerabnahme des Ba(OH) <sub>2</sub> i. cem <sup>n</sup> / <sub>100</sub> -Säure	mg CO <sub>2</sub>
1	1,35	0,297
2	2,11	0,462
3	5,34	1,175
4	1,66	0,365
HCN-Konzentration <sup>0</sup> / <sub>100</sub>	Dehydrierungskohlensäure nach 11½ Std. in Phosphat-Kochsaft mg	
5		0,878
5	„anaerob“	0 (—0,097)

**3. Wirkung der Blausäure auf die Bildung von Dehydrierungswasserstoff unter besonderen experimentellen Bedingungen.**

*a) Strukturzerstörung der Muskelzellen.*

Die Methode der Strukturzerstörung mittels Gefrieren in flüssiger Luft und Pulverisieren ist früher beschrieben. Je 2,0 g Muskelpulver in 10 cem Flüssigkeit eingetragen und mit 0,2 g Dinitrobenzol vermischt.

1. Milieu: Destilliertes Wasser. Der Versuchsausfall nach 1½ Stunden entspricht dem nach 20 Stunden. Dann abfiltriert und gegen willkürlichen Keil eingestellt.

KCN (mit HCl neutralisiert) <sup>0</sup> / <sub>100</sub>	Colorimeterzahl <sup>1)</sup>
0	> 90 (völlig farblos)
0,6	62
1,2	54,5
5,0	21

2. Milieu: 0,5% NaCl-Lösung. HCN-Lösung nicht neutralisiert. Reduktionsdauer 20 Stunden bei 20°.

HCN-Konzentration <sup>0</sup> / <sub>100</sub>	Kolorimeterzahl	Nitrophenylhydroxylamin mg
0	> 80	< 1,3
0,2	63	2,4
2,0	63	2,4

0,2<sup>0</sup>/<sub>100</sub>ige Nitrophenylhydroxylaminlösung: 69.

<sup>1)</sup> Bei diesen wie anderen Versuchen war die Möglichkeit noch nicht erkannt, die Menge gebildeten Nitrophenylhydroxylamins quantitativ zu messen.



3. Milieu: 1,5 proz.  $K_2HPO_4$ -Lösung. Reduktionsdauer  $4\frac{1}{2}$  Stunden. Jedes Kölbchen mit 5 Tropfen 15 proz. Essigsäure versetzt und nach Filtrieren colorimetriert.

HCN-Konzentration ‰	Colorimeterzahl	Nitrophenylhydroxylamin mg
0	84	2,2
0,2	79	2,87
2,0	74	3,56

Die Stimulation der strukturfreien Nitroreduktion ist in jedem Falle deutlich.

*b) Optimale Sauerstoffversorgung der Zellen.*

Als Gefäße wurden konische 75 cem-Saugflaschen benutzt, die mit 10 cem Flüssigkeit, 2 g Muskulatur und 0,2 g Dinitrobenzol versetzt wurden, so daß das Gemisch ca. 1,2 cm hoch den Boden bedeckte. Sie wurden dann mit Gummistopfen fest verschlossen und mit ihren Glasansätzen durch Druckschläuche an das gleiche Sauerstoffgasometer angeschlossen und in der gleichen Maschine bei ca. 0,4 Atmosphären Sauerstoffdruck langsam geschüttelt. Unter diesen Umständen wird die Nitroreduktion gegenüber der Sauerstoffatmung völlig ausgeschaltet.

1. Versuch: Lösungen ohne Muskulatur und Dinitrobenzol fest verschlossen unter 0,4 Atmosphären Sauerstoff 30 Minuten lang geschüttelt; dann Zusatz. Nach 2 Stunden ist der Reduktionsunterschied bereits sehr deutlich. Colorimetrie nach 21 Stunden. Keil willkürlich.

KCN neutralisiert ‰	Colorimeterzahl
0	>92 (völlig farblos)
0,6	90
6,0	78

2. Versuch: Flüssigkeiten mit Muskulatur unter Sauerstoffdruck 15 Minuten lang geschüttelt; dann Zusatz von Dinitrobenzol. Colorimetrie nach 20 Stunden. Willkürlicher Keil.

KCN neutralisiert ‰	Colorimeterzahl
0	90
0,3	88,5
0,6	86
1,2	74
5,0	60

Die Sauerstoffatmung der Muskelzelle ist unter Blausäure mit der Nitroatmung nicht mehr konkurrierend wirksam; diese wird also durch HCN stimuliert.

*c) Thermolabilität der unter HCN verlaufenden Nitroreduktion.*

Je 2 g Muskulatur in 5 cem  $H_2O$  von  $t^\circ 20$  Minuten lang aufbewahrt, dann abgekühlt und Zusatz von 5 cem 1 proz. neutralisierten KCN

und 0,2 g Dinitrobenzol. Reduktionsdauer 20 Stunden. Willkürlicher Keil (Normalreduktionsversuch).

$t =$	Colorimeterzahl
20°	50
43—44°	74
57—58°	76
85—87°	> 93 (völlig farblos)

Wiederholung: 2 g Muskulatur in 5 ccm Wasser von 85° 15 Minuten aufbewahrt, dann abgekühlt und mit 5 ccm 0,5proz. KCN + 0,2 g Dinitrobenzol versetzt. Versuchsdauer 20 Stunden.

Colorimeterzahl: > 92 (völlig farblos).

d) *Abhängigkeit der unter HCN verlaufenden Nitroreduktion vom Cofermentgehalt der Zellen.*

1. Froschmuskulatur fein zerschnitten, 5 mal je 5 Minuten mit der dreifachen Menge destillierten Wassers extrahiert, abgepreßt, je 2 g in 10 ccm Flüssigkeit mit 0,2 g Dinitrobenzol vermischt; nach 16 Stunden abfiltriert. Willkürlicher Keil.

Suspensionsflüssigkeit	Colorimeterzahl
aq. dest.	> 92
1,5% $K_2HPO_4$	86
0,45% KCN (neutralis.)	88,5

2. Muskulatur dreimal mit der dreifachen Menge destillierten Wassers je 5 Minuten extrahiert. Reduktionsdauer 16 Stunden.

Suspensionsflüssigkeit	Colorimeterzahl
aq. dest.	> 92
1,5% $K_2HPO_4$	85
0,45% KCN (neutralis.)	83,5

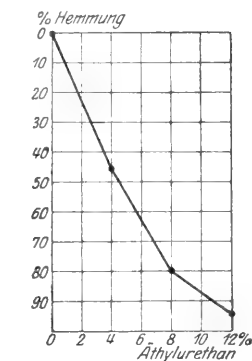
e) *Wirkung von Narkoticis und Blausäure auf die Dehydrierung von Bernsteinsäure und Fumarsäure durch wasserextrahierte Muskulatur.*

1. Muskulatur 5 mal extrahiert; 2 g-Portionen in 10 ccm 1 proz. mit Soda genau neutralisierter Bernsteinsäure suspendiert, die gleichzeitig Narkoticum oder Blausäure enthält. Normalversuch mit nicht extrahierter Muskulatur als Keilfüllung. Zeit: 20 Stunden.

Suspensionsflüssigkeit	Colorimeterzahl	Hemmung in %
aq. dest.	> 92	
1% Bernsteinsäure + Äthylurethan	%	
	0	42
	4	68,5
	8	88
	12	> 92
		0
		45,7
		79,5
		> 90

Also normaler Verlauf der *Narkotikum-Konzentrationshemmungskurve* (S. 497).

Suspensions- flüssigkeit	Kolori- meterzahl	Hemmung in %
1% Bernsteinsäure + KCN (neutralis.) ‰		
0	42	0
0,012	52	17,2
0,12	66,5	42,2
0,3	72,5	52,5
0,6	77,5	61,2
1,2	78,5	63
3,0	79,5	64,7
4,8	80	65,5



Kurve 6.

2. Muskulatur 4 mal extrahiert, sonst wie oben. In destilliertem Wasser zeigen die Zellen keine Spur von Reduktion mehr. Bernsteinsäure und KCN genau neutralisiert.

1% Bernsteinsäure + KCN ‰	Kolorimeterzahl	Hemmung in %
0	65	0
0,04	78	37
0,25	84	54
0,4	87	63
1,0	88,5	67
2,5	87	63
4,0	87	63
10,0	87	63
25,0	86,5	61,4

3. Muskulatur in der 20fachen Menge destillierten Wassers dreimal je 10—15 Minuten extrahiert. Je 2 g in 10 cem Flüssigkeit suspendiert und mit 0,2 g Dinitrobenzol vermischt. Reduktionsdauer 20 Stunden. Muskulatur in aq. dest. vollständig reduktionsunfähig. 1proz. KCN-Stammlösung mit HCl genau neutralisiert und in der Weise verdünnt, daß 9 cem Blausäurelösung mit je 1 cem genau neutralisierter 5proz. Bernsteinsäure- resp. 5proz. Fumarsäurelösung vermischt wurden.

Suspensionsflüssigkeit	Kolorimeterzahl	Hemmung in %
0,5% Bernsteinsäure + KCN ‰		
0	30	0
0,018	60	43
0,14	69	55,7
0,28	73	61,4
0,56	80	71,4
1,13	83,5	76,4
0,5% Fumarsäure + KCN ‰		
0	73	0
0,018	74	4
		Steigerung in %
0,56	70,5	9
1,13	71	7
2,25	66	26
4,5	58	56
9,0	50,5	83

4. Muskulatur in der 17fachen Menge Wassers dreimal je 5 bis 7 Minuten extrahiert. Muskulatur in aq. dest. vollständig reduktionsunfähig; sonst wie oben.

Suspensionsflüssigkeit	Kolorimeterzahl	Hemmung in %
0,5% Bernsteinsäure + KCN <sup>0</sup> / <sub>100</sub>		
0	42,5	0
0,033	54	20
0,133	70,5	49
0,266	77	60
0,53	82	69
1,0	82	69
2,11	80	65
4,23	78	62
8,5	73,5	54

Suspensionsflüssigkeit	Kolorimeterzahl	Hemmung: -; resp. Steigerung: + in %
0,5% Fumarsäure + KCN <sup>0</sup> / <sub>100</sub>		
0	38	0
0,033	44	-10
0,133	46	-13
0,266	54,5	-26,6
0,53	55	-27,5
1,0	49	-18
2,11	31	+11,3
4,23	23	+24
8,5	-3	+66
(ohne Muskulatur 8,5	>91),	

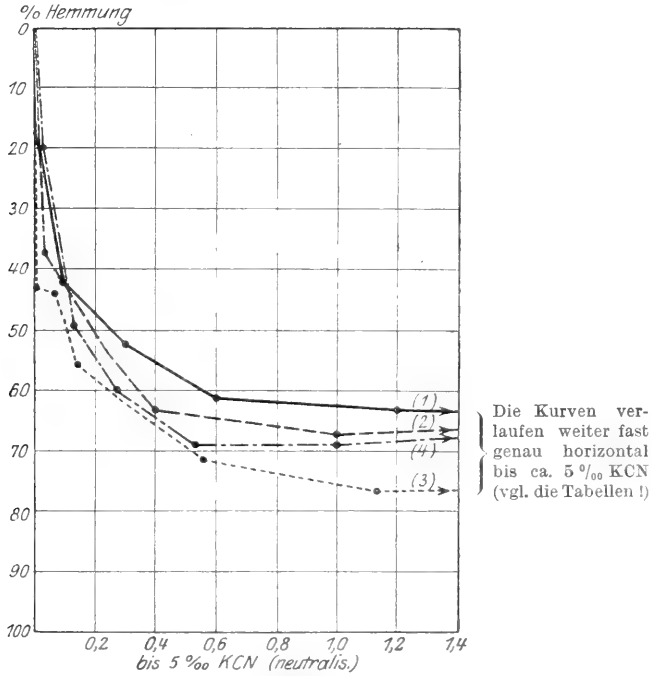
5. Muskulatur dreimal je 5 Minuten mit Wasser extrahiert, in aq. dest. völlig reduktionsunfähig.

0,5% Fumarsäure + KCN <sup>0</sup> / <sub>100</sub>		
0	74,5	0
0,1	74,5	0
0,21	74	-1
0,42	74	-1
0,86	74	-1
1,67	67	+29,4
3,5	58	+64,7
8,4	49	+100

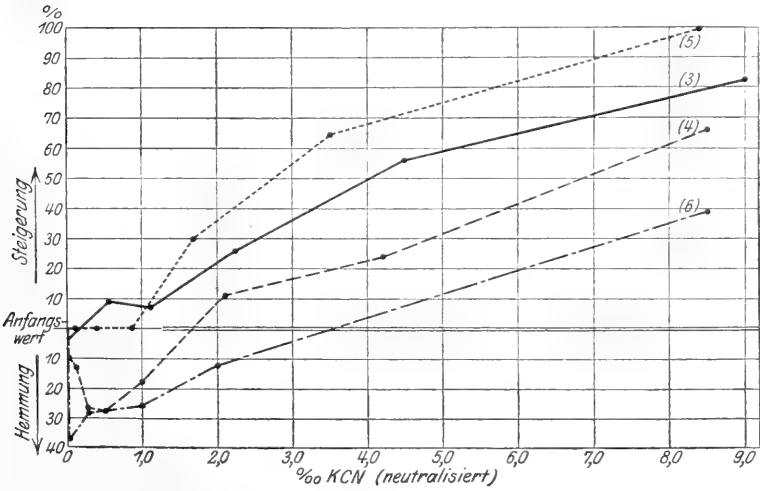
6. Wie oben.

0,5% Fumarsäure + KCN <sup>0</sup> / <sub>100</sub>		
0	54	0
0,034	71	-37
0,27	67	-28
1,0	66	-26
2,0	59,5	-12
8,5	36	+39

7. Sehr fein zerschnittene Muskulatur dreimal je 8 Minuten mit der 40fachen Menge destillierten Wassers extrahiert und *stark* inaktiviert. Reduktionsdauer 20 Stunden. Willkürlicher Keil.



Kurve 7. Bernstein säuremuskulatur.



Kurve 8. Fumarsäuremuskulatur. Anfangshemmung bei (5) 74,5, bei (3) 78, bei (4) 88, bei (6) 54.

	Kolorimeterzahl	Nitrophenylhydroxylamin mg
Normalmuskulatur in H <sub>2</sub> O. Verdünnung mit Alkohol 4fach	56	24,1
0,5 ‰ Nitrophenylhydroxylaminlösung	63,5	
wasserextrahierte Muskulatur in 0,5proz. neutralis. Fumarsäure, die gleichzeitig enthält		
‰ HCN (nicht neutralis.).		
0	> 92	< 1
0,25	90,5	1,3
0,6	88	1,64
1,25	85	2,05
2,5	77,5	3,08
10,0	68	4,38

Die *Stimulation der Fumarsäure-Dinitrobenzol-Oxydoreduktion* von kofermentfreien Muskelzellen durch *Blausäure* ist also auch unter extremen Bedingungen ganz deutlich und quantitativ meßbar.

### Zusammenfassung.

#### I.

1. Die früher beschriebene biologische Reduktion des farblosen m-Dinitrobenzol zu dem gelben m-Nitrophenylhydroxylamin diente bisher als Basis einer *vergleichend-quantitativen* Meßmethode der Atmungs- und Gärungsgeschwindigkeit. Die Reaktion läßt sich aber auch zu *quantitativen* Messungen des Dehydrierungswasserstoffes benutzen, indem man einen mit reinem m-Nitrophenylhydroxylamin geeichten Keil im *Autenriethschen* Kolorimeter verwendet.

2. Die Menge des durch 2 g zerschnittene Froschmuskulatur in 10 ccm destilliertem Wasser in 8 Stunden gebildeten Reduktionsproduktes beträgt danach 15–25 mg; in isotonischer NaCl- oder KCl-Lösung (ohne Unterschied) ist die Reduktion noch gesteigert; in CaCl<sub>2</sub>-Lösung von der in der Ringerlösung angewandten Konzentration (0,1‰) erheblich vermindert; dem wirkt auch gleichzeitiger NaCl-Zusatz nicht entgegen. Demgemäß ist selbst bicarbonathaltige Ringerlösung ein ungünstigeres Reaktionsmilieu als destilliertes Wasser. Das optimale Milieu für die Nitroatmung ist Muskelkochsaft, der 1,5‰ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> enthält oder auch Natriumphosphatgemisch von  $p_H = 7,4$ . In diesem Falle beträgt die Menge des Reduktionsproduktes bereits nach 2 Stunden ca. 20 mg, nach 4–8 Stunden 30–40 mg, mitunter bis zu 50 mg nach 8–24 Stunden. Diesen Mengen entsprechen stöchiometrisch 4 resp. 6–8–10 mg O<sub>2</sub>, ein Sauerstoffverbrauch, der nach seiner Größenordnung durchaus den Respirationsversuchen von *Meyerhof* entspricht. Der Reduktion von Nitrosauerstoff wiederum entsprechen große Mengen von unvollständig oxydierter Milchsäure, die

wohl dem gesamten Bestand der Muskulatur an Kohlehydrat gleichkommen.

Bei hoher Atmungsgeschwindigkeit der Zellen oder relativem Mangel an Dinitrobenzol findet Reduktion über Nitrophenylhydroxylamin hinaus bis zu Nitranilin statt, kenntlich an der Azofarbstoffbildung mit  $\alpha$ -Naphthol — reduktive Entgiftung.

3. Die anaerob auf Kosten von Nitrosauerstoff verlaufende Verbrennung von Muskelsubstanzen führt zur Bildung von Kohlensäure. Es ist also bei Gegenwart geeigneter Wasserstoffakzeptoren eine anaerobe — nicht carboxylaseartige — Kohlensäurebildung auch höherer tierischer Zellen nachweisbar.

4. Die produzierte Kohlensäuremenge beträgt bei Nitroatmung von 2 g Muskulatur in 8 Stunden in destilliertem Wasser etwa 0,6 mg, in optimalem Milieu etwa 1,3 mg; das entspricht der Steigerung der Nitroreduktion. In jedem Falle aber beträgt die Kohlensäurebildung nur 10—15% der Wasserstoffaktivierung oder des Sauerstoffverbrauchs.

5. Während also der respiratorische Quotient der atmenden Froschmuskulatur für den Wasserstoffakzeptor Sauerstoff (gasförmig) nach *Meyerhof* 1,06 beträgt, ergibt er sich für den Wasserstoffakzeptor Dinitrobenzol nur zu 0,10—0,15. Daraus folgt eine Anhäufung von über 80% unvollständiger Verbrennungsprodukte der Milchsäure, die möglicherweise durch Reaktion mit dem gleichzeitig entstehenden Nitrophenylhydroxylamin fixiert werden. Von diesen wurde in kleinen Mengen Acetaldehyd nachgewiesen.

## II.

6. Die Nitroreduktion atmender Muskelzellen wird bereits bei sehr niedrigen Blausäurekonzentrationen merklich gehemmt und erreicht bei ca. 0,3  $\frac{0}{100}$  HCN ihr Minimum von ca. 40%; die gleiche Beobachtung wurde auch in optimalem Reaktionsmilieu (sekundärem Phosphat) gemacht. Die Reduktionshemmung bleibt jedoch im Gegensatz zur Atmungshemmung und im Gegensatz zur Wirkung allgemeiner Narkotika stets *inkomplett*, so daß selbst in fast 0,5proz. Blausäurelösungen eine Reduktion von 4—9 mg Dinitrobenzol stattfindet.

7. Dieser Reduktion entspricht wiederum die Bildung von Kohlensäure bei niedrigem respiratorischen Quotienten.

8. Die Wirkung der HCN auf die Reduktion wasserextrahierter Bernsteinsäuremuskulatur besteht in einer inkompletten Hemmung, die Wirkung auf Fumarsäuremuskulatur in einer Reduktions*steigerung*.

9. Die minimale Reduktion strukturzerstörter Froschmuskulatur wird durch HCN *stimuliert*.

10. Die unter Blausäure verlaufende Nitroreduktion normaler Zellen ist durch konkurrierenden *Luftsauerstoff nicht ausschaltbar*.

11. Dagegen ist sie *thermolabil* und an die Gegenwart von *Coferment gebunden*.

12. Auf Grund der obigen Beobachtungen, die eine Ähnlichkeit der durch HCN umgeschalteten Nitroreduktion atmender Zellen mit der gärender *Ascariszellen* ergeben, wird folgende Theorie aufgestellt: *Die Blausäure schaltet atmungsartige Oxydo-Reduktionen (Schwermetallkatalysen) in gährungsartige schwermetallfreie um.*

*Nachtrag bei der Korrektur:* Unterdessen ist auch eine wichtige *thermodynamische* Beobachtung veröffentlicht worden, die darauf hindeutet, daß anaerobe, ja selbst unter Blausäure verlaufende energieliefernde Prozesse im Muskel sich vollziehen: *A. V. Hill*<sup>1)</sup> studierte in einer neuen Untersuchungsreihe die verschiedenen Phasen der Wärme-Produktion im Froschsartorius; er fand in Abwesenheit von Sauerstoff, d. h. nach mehrstündigem Verweilen in reinem Stickstoff, wobei Reize gesetzt wurden, die Verbrauch des Restsauerstoffs bewirken sollten, daß trotzdem eine verzögerte Erholungswärme-Produktion eintrat. Sogar wenn ein dünner Sartorius mit 0,0007 bis 0,002 n-Cyankali getränkt wurde, fand noch 30% der Initialwärmeproduktion statt. Für diesen Befund gibt es nach Hill 3 Erklärungsmöglichkeiten: 1. Chemische Reaktionen des Erholungsprozesses können bis zum gewissen Grade vor sich gehen und vor dem Oxydationsstadium halt machen. 2. *Im Muskel existiert ein Wasserstoffakzeptor, wie das Hopkins'sche Dipeptid, der Oxydationen sogar in Abwesenheit von molekularem Sauerstoff bewirkt.* 3. Die sauerstofffreie Wärmebildung muß zum Initialstadium und nicht zum Erholungsstadium gerechnet werden. Während Hill noch nicht in der Lage ist, zwischen diesen drei Erklärungsmöglichkeiten zu entscheiden, darf man nach obigen chemischen Beobachtungen die zweite der erwähnten Möglichkeiten für am nächsten liegend halten; gebildeter Dehydrierungswasserstoff und Wärme-Produktion führen zur gleichen Folgerung.

<sup>1)</sup> The mechanism of muscular contraction. *Physiol. reviews*, vol. II Nr. 2, April 1922.



# Untersuchungen über die Wirkung von Neutralsalzen auf den tonischen Anteil der Muskelzuckung.

Von  
S. M. Neuschlosz.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt am Main.)

Mit 13 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. Juni 1922).

Untersuchungen, welche ich in Gemeinschaft mit *O. Riesser*<sup>1)</sup> über die physikochemischen Grundlagen der *Veratrinzuckung* unternommen habe, führten uns zu einer Theorie der Veratrinwirkung, die sich auf eine Anzahl *physiologischer* und *physikochemischer* Tatsachen stützte und aus welcher sich die bekannten Erscheinungen des Veratrineffektes unmittelbar ableiten ließen. Das Wesentliche dieser Theorie besteht in einer Verquickung der bekannten Anschauung *Botazzis*<sup>2)</sup> über die Bedeutung des *Sarkoplasmas* als des Substrates der *tonischen* Muskelverkürzung mit der modernen Säurequellungstheorie, wie sie namentlich von *Pauli*<sup>3)</sup> und von *Fürth*<sup>4)</sup> vertreten wird.

Was ihre *anatomischen* Grundlagen betrifft, beruhen unsere Vorstellungen auf den allgemein bekannten histologischen Verhältnissen der Muskelfaser, indem wir *drei* funktionell verschiedene Elemente im Muskel unterscheiden: 1. die quergestreifte *Fibrille*, 2. das *Sarkoplasma* und 3. eine *außerhalb* dieser liegende *Grenzmembran*, die anatomisch *vielleicht* mit dem *Sarkolemm* zusammenfällt. Von diesen drei Gebilden erachten wir die Fibrille und das Sarkoplasma zu aktiver Kontraktion befähigt, während wir über die Natur der Grenzmembran zunächst noch nichts auszusagen vermögen und auch die Möglichkeit offen lassen wollen, daß es sich hierbei vielleicht gar nicht um ein selbständiges Formelement, sondern etwa um die *Grenzschichte* des *Sarkoplasmas* handelt. Was uns allein von Bedeutung zu sein scheint, ist, daß außer der Fibrille und dem Sarkoplasma ein von beiden *funktionell*

<sup>1)</sup> *Riesser* und *Neuschlosz* Arch. Pflügers f. d. ges. Physiol. **93**, 179. 1922.

<sup>2)</sup> *Botazzi*, Arch. f. Physiol. 1901, S. 377.

<sup>3)</sup> *Pauli*, Kolloidchemie der Muskelkontraktion. Dresden 1912.

<sup>4)</sup> *v. Fürth*, Ergebnisse der Physiologie **17**, 3. 1919.

durchaus differentes Gebilde vorhanden sein muß, welchem Membraneigenschaften zukommen.

Wie auf Grund dieser *funktionellen Dreiteilung* der Muskelfaser unter Berücksichtigung der kolloidchemischen Eigenschaften des Veratrin wir zu einem Verständnis der charakteristischen Muskelwirkungen dieses Giftes gelangen können, ist in den erwähnten Arbeiten ausführlich besprochen worden. Hier sei nur hervorgehoben, daß unseren Anschauungen nach *zwei Faktoren* für das Zustandekommen typischer Veratrinzuckungen von Bedeutung sind: eine Quellungsbegünstigung im Inneren des Sarkoplasmas und eine Entquellung und Abdichtung der Fasergrenzschichten. Sind diese beiden Bedingungen erfüllt, so ist es verständlich, daß die bei der Zuckung an der Fibrille gebildeten Säuren aus der Faser nur langsam abdiffundieren können und das quellungsfähiger gewordene Sarkoplasma zur Quellung und dadurch zur Kontraktion bringen. In bezug auf nähere Einzelheiten unserer Vorstellung kann auf die genannten Arbeiten verwiesen werden.

Der größte Teil der neueren Forscher erachtet aber den zweiten Gipfel der Veratrinzuckung nur als einen besonders prägnanten Fall für den bei jeder Muskelzuckung mehr oder weniger in Erscheinung tretenden *tonischen Anteil* der Kontraktion. Die zweite Erhebung in der Zuckungskurve des mit Veratrin vergifteten Muskels gehört demnach zu derselben Gruppe von Erscheinungen, wie die auch bei völlig normalen Muskeln auftretende *Funkesche Nase* oder die *Tiegelsche Contractur*. In diese Kategorie fällt ferner die sogenannte „*innere Unterstützung*“ (v. Frey), die bei rhythmischer Reizung des Muskels auftritt und sich in einer mehr oder weniger ausgesprochenen Erhöhung der Fußpunktlinie über die Abszisse kundgibt. All diese Eigentümlichkeiten des Muskels können im Grunde genommen als ein Ausdruck seiner Tonusfunktion angesehen werden, so daß auch für diese im Sinne unserer Anschauungen eine Abhängigkeit von den erwähnten zwei Faktoren: von der Quellbarkeit des Sarkoplasmas und der Permeabilität der Fasergrenzschichten gefordert werden müßte, soweit wir unsere Theorie aufrecht erhalten wollen.

Hier ergab sich also eine weitere Gelegenheit, unsere Vorstellungen auf ihre Stichhaltigkeit einer Prüfung zu unterziehen und da wir, wie im folgenden gezeigt werden soll, von diesen Anschauungen ausgehend eine nicht unerhebliche Anzahl neuer Tatsachen aufzufinden vermochten, die alle in ihren wesentlichsten Zügen vorausgesagt werden konnten, dürfen wir wohl behaupten, daß unsere Theorie über die physiko-chemischen Grundlagen der tonischen Muskelverkürzung ohne Rücksicht auf ihre endliche Richtigkeit zumindest uns in dem Studium dieser wichtigen Teilfunktion des Muskels ein Stück weiter bringen kann.

Wie bereits kurz erwähnt wurde, spielen nach unseren Anschauungen Quellungs- und Entquellungsvorgänge innerhalb der Muskelfaser eine ausschlaggebende Rolle bei dem Zustandekommen tonischer Kontraktionen. Nun kennen wir eine Reihe von Substanzen, deren Einfluß auf den Quellungszustand von Kolloiden im allgemeinen als wohldefiniert angesehen werden kann. Außer den Säuren und Alkalien gehören zu diesen in erster Reihe die Ionen der Neutralsalze. So wissen wir, daß die zweiwertigen Erdalkalikationen und die mehrwertigen Anionen: Sulfat, Tartrat, Oxalat und Citrat entquellend, die Alkalikationen, namentlich das Kalium und die einwertigen Anionen:  $\text{NO}_3$ , J und CNS quellungsbegünstigend wirken. Es schien mir daher mit Hinblick auf unsere Anschauungen von erheblichem Interesse zu sein, ob der Einfluß, den die genannten Ionen auf die tonische Muskelverkürzung ausüben, mit der Theorie in Einklang stehen oder gar aus ihr vorhergesagt werden können. Die Neutralsalze wurden deshalb auf ihre Wirkung auf die Einzelzuckung normaler und mit Veratrin vergifteter Muskeln und gegenüber der inneren Unterstützung bei rythmischer Reizung untersucht.

Seit den grundlegenden Versuchen *Overtons*<sup>1)</sup> über die Bedeutung der Neutralsalze für die Muskelzuckung, ist ja über dieses Thema eine recht ansehnliche Zahl von Arbeiten veröffentlicht worden. Doch wurden diese Arbeiten ausnahmslos von durchaus anderen Gesichtspunkten aus unternommen, als die vorliegende, und es wurden daher auch die Versuchsbedingungen anders gewählt, als die von mir eingehaltenen. Ein unmittelbarer Vergleich meiner Versuchsergebnisse mit denen früherer Autoren ist deshalb in den meisten Fällen nicht durchführbar. Während nämlich die meisten Forscher die Bedeutung des einen oder anderen Ions für die Aufrechterhaltung oder Wiederherstellung der Erregbarkeit oder Contractilität des Muskels feststellen wollten und daher frische oder mit Anelektrolyten vorbehandelte Muskeln mit reinen oder annähernd reinen Salzlösungen behandelten, trachtete ich die verwendeten Salzgemische stets derart zu gestalten, daß die Erregbarkeit und die Zuckungshöhe des Muskels der Norm gegenüber nicht oder nur ganz unbedeutend verändert wurde. Während ferner in früheren Arbeiten über die Einwirkung von Salzen im allgemeinen nur auf die Reizschwelle, auf die Zuckungshöhe und auf spontan eintretende Kontraktionen geachtet wurde, legte ich mein Augenmerk auf den zeitlichen Verlauf der einzelnen Kontraktionen, also auf die genauere Form der Zuckungskurven, welche unter der Einwirkung verschiedener Lösungen auftreten. Eine ausführliche Besprechung der bisherigen Literatur über die Wirkung von Neutralsalzen auf den Skelettmuskel soll daher an dieser Stelle nicht erfolgen, da sich aus

<sup>1)</sup> *Overton*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **92**. 1902 und **105**, 176. 1904.

ihr für die hier zu erörternden Fragen doch keine wesentlichen Gesichtspunkte ergeben. Soweit dies in einzelnen Fällen erforderlich sein wird, sollen die betreffenden Angaben früherer Autoren in Zusammenhang mit meinen Versuchen mitdiskutiert werden.

#### Methodik.

Die zu besprechenden Versuche sind ausschließlich an den isolierten *Gastrocnemien* von *Rana temporaria* in den Wintermonaten von November bis März ausgeführt worden. Die Muskeln sind nach dem von *Kopyloff* beschriebenen Verfahren in froschisotonischer Ringerlösung (NaCl : 0,6%, KCl : 0,01%, CaCl<sub>2</sub> : 0,01%, NaHCO<sub>3</sub> : 0,01%) suspendiert worden, durch die aus einem Gasometer andauernd Sauerstoff durchperlte. Zur Reizung diente ein *Dubois-Reymond*sches Schlitteninduktorium. Bei der rhythmischen Reizung wurde ein Pendelunterbrecher verwendet, dessen Frequenz 120 in der Minute betrug, während Einzelreize (stets nur Öffnungsschläge) mit Hilfe zweier Quecksilberschlüssel (je einer im primären und sekundären Stromkreise) gegeben wurden. Als Stromquelle diente ein Akkumulator mit 2,2 Volt Klemmenspannung. Der Muskel griff an einem leichten zweiarmligen Hebel an, der mit 10 g belastet war. Die Übertragung auf die Trommel geschah mit einer 10fachen Vergrößerung.

Nach Suspension des Muskels in Ringerlösung wurde der eben maximal wirkende Reiz festgestellt und der Rollenabstand während des ganzen Versuches unverändert gelassen. Es wurden dann in kurzen Zeitabständen einige Einzelzuckungen und schließlich eine kurze Reihe rhythmischer Kontraktionen ausgeführt. Hiernach wurde die reine Ringerlösung gegen die zu untersuchende gewechselt.

Die meisten Autoren, die mit einer ähnlichen Versuchsanordnung gearbeitet haben, trachteten den *osmotischen Druck* ihrer verschiedenen Lösungen stets genau gleich zu halten. Dies erreichten sie meistens dadurch, daß sie bei Zusatz irgendeines Salzes (z. B. KCl in höherer Konzentration) den NaCl-Gehalt der Lösung so stark herabsetzten, daß ihr osmotischer Druck unverändert blieb. Durch diesen Vorgang unterscheidet sich aber die zweite Lösung von der ursprünglichen, nicht nur in bezug auf ihren Gehalt an dem zugefügten Salze, sondern auch durch ihren geringeren Gehalt an NaCl. Hierdurch entsteht aber eine gewisse Unsicherheit in der Deutung der Resultate, da es bei einer Änderung im Verhalten des Muskels in der zweiten Lösung gegenüber der ersten zunächst unentschieden bleibt, ob dieselbe auf den Zuschuß an K, oder auf den Mangel an Na zurückzuführen ist. Um diese Fehlerquelle zu vermeiden ging ich stets von der vollen Ringerlösung aus, zu der ich dann die betreffenden Salze in verschiedenen Konzentrationen hinzufügte. Daß die hierdurch bedingte geringfügige Hypertonie dem Muskel weitaus weniger schädlich ist, als eine Isotonie, die auf Kosten von NaCl aufrecht erhalten wird, ergab sich, daraus, daß die Muskeln in meinen Versuchen, z. B. in Lösungen mit erhöhtem Gehalt, ihre ursprüngliche Erregbarkeit und Contractilität wesentlich länger beibehielten, als in den Versuchen, wo auf die Konstante des osmotischen Druckes mit äußerster Sorgfalt geachtet wurde. Bei der verhältnismäßig geringen Dauer meiner Versuche spielen kleine Schwankungen im osmotischen Druck offenbar keine beträchtliche Rolle, während die Aufhebung des Ionengleichgewichtes sich in ihren Wirkungen sofort bemerkbar macht. Von der Regel, bei der Herstellung der Lösungen stets von unveränderter Ringerlösung auszugehen, wurde nur in den Fällen Abstand genommen, in denen Salze zur Untersuchung gelangten, deren Anionen unlösliche Calciumsalze bilden (z. B. Oxalat oder Citrat). Diese Salze wurden naturgemäß in calciumfreier Ringerlösung verwendet.

*Die Wirkung von K und Ca auf die innere Unterstützung des Muskels.*

Erhöhen wir den Gehalt der Ringerlösung an KCl auf etwa das Zehnfache (0,1%), ohne eine Änderung an irgendwelchen anderen Bestandteilen vorzunehmen, so behält der Muskel seine ursprüngliche Zuckungshöhe stundenlang unverändert bei, und wenn wir den Muskel nur mit Einzelschlägen reizen, so läßt sich während dieser Zeit auch nicht die geringste Abnormität in seinem Verhalten nachweisen. Daß aber der funktionelle Zustand des Muskels nichtsdestoweniger eine Änderung erfahren hat, wird sofort offenbar, wenn wir ihn *rhythmisch* zu reizen beginnen. Ein Beispiel möge dies veranschaulichen.

Versuch 43. Temporaria ♂. 2. XI. 1921. (Hierzu Abb. 1.)

9<sup>h</sup> 45' Suspension des einen Gastrocnemius in Ringerlösung. — 9<sup>h</sup> 50' Reizung des Muskels mit rhythmischen Schlägen während 20'' (R.A.: 6 cm, Fr: 120) (Abb. 1a) 9<sup>h</sup> 51' Der Muskel erhält eine Ringerlösung mit 0,1% KCl. — 10<sup>h</sup> 37' Reizung des Muskels während 20'' (Abb. 1b). — 10<sup>h</sup> 38' Wechsel gegen reine Ringerlösung. — 10<sup>h</sup> 46' und 11<sup>h</sup> 09' frische Ringerlösung. — 11<sup>h</sup> 47' Rhythmische Reizung während 20''. (Abb. 1c.)

Aus diesem Beispiel, dessen Ergebnis sich in einer Anzahl von Versuchen immer wieder bestätigen ließ, geht hervor, daß durch die Einwirkung überschüssigen Kaliums die *innere Unterstützung* des Muskels eine

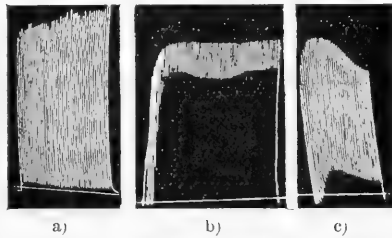


Abb. 1 a—c.

derartige *Erhöhung* erfährt, daß die Fußpunktlinie desselben sogleich nach Beginn der rhythmischen Reizung zu steigen beginnt, nach wenigen Zuckungen eine gewisse Höhe erreicht und so lange auf dieser verbleibt, als die rhythmische Reizung andauert. Wird die Reizung längere Zeit hindurch fortgesetzt, ohne sie zu unterbrechen, so steigt die Fußpunktlinie allmählich noch weiter an, und der Muskel fällt schließlich in eine Ermüdungscontractur. Wird jedoch die Reizung rechtzeitig unterbrochen, so fällt die Fußpunktlinie wieder bis zur Abszisse ab, um bei neuerlicher Reizung sofort wieder anzusteigen. Durch öfteres Auswaschen des Muskels mit reiner Ringerlösung läßt sich der durch Kalium hervorgerufene Zustand des Muskels restlos beseitigen und der Muskel schreibt wieder Kurven, die sich von den vor der Kaliumeinwirkung erhaltenen durch nichts unterscheiden. Durch Ruhe wird die Beseitigung der Kaliumwirkung merklich beschleunigt, während sie durch öfteres Reizen lange hintangehalten werden kann.

Bei der Unentbehrlichkeit des Kaliums in physiologischen Lösungen liegt natürlich die Annahme nahe, daß diese Begünstigung der inneren Unterstützung, die der Muskel durch Kalium erfährt, auch unter

normalen Bedingungen nicht ohne Bedeutung sein dürfte, und zwar um so mehr, als, wie dies weiter unten noch besprochen werden soll, das Weglassen des Kaliums aus der Ringerlösung, ebenso wie die Erhöhung der Calciumkonzentration zu einer merklichen Verlängerung des Muskels führt. Es sei daher in diesem Zusammenhange noch darauf hingewiesen, daß während einerseits von *E. Frank*<sup>1)</sup> die Abhängigkeit des Muskeltonus vom *parasympathischen* Nervensystem immer energischer verfochten wird, andererseits *S. G. Zondek*<sup>2)</sup> neuerdings die Theorie aufgestellt hat, daß das Wesen der parasympathischen Nervenregung in der Mobilisation von Kaliumionen zu suchen sei. Ein Parallellismus zwischen dem Effekte der Pyrasymphathicusreizung und der Kaliumwirkung besteht tatsächlich bei den verschiedensten Organen. Für den Fall des quergestreiften Muskels konnte *Riesser*<sup>3)</sup> den Beweis erbringen, daß die Wirkung hoher Kaliumkonzentrationen mit dem des sonst als typisch parasympathicomimetisch bekannten Giftes *Acetylcholin* weitgehende Ähnlichkeit aufweist. Es spricht demnach so manches für die Vermutung, daß der physiologische Muskeltonus vielleicht durch die Kaliumionen aufrechterhalten wird und daß alle Faktoren, die eine Änderung desselben herbeizuführen vermögen, letzten Endes nur eine Erhöhung oder Herabsetzung der freien Kaliumionen an den „Stellen ihrer Wirkung“ verursachen. Eine eingehendere experimentelle Begründung dieser Annahme muß allerdings weiteren Untersuchungen vorbehalten werden.

Ein in manchen Punkten gerade entgegengesetztes Bild bietet der Muskel dann, wenn er mit einem geringen Überschuß von  $\text{CaCl}_2$  behandelt wird. Als Erläuterung hierzu kann folgender Versuch dienen. Es sei gleich hervorgehoben, daß Weglassen des normalen Kaliumgehaltes der Ringerlösung dieselbe Wirkung hat, wie Calciumzusatz.

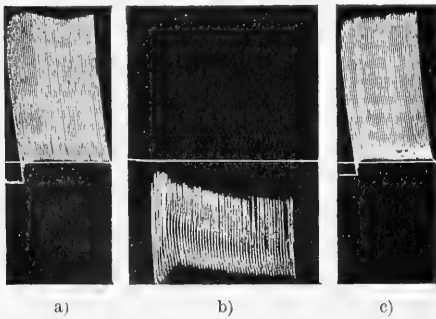


Abb. 2 a—c.

Versuch 46. Temporaria ♀.  
4. XI. 1921. (Abb. 2.)

2<sup>h</sup> 15' Suspension des Gastrocnemius in Ringerlösung. — 2<sup>h</sup> 24' Rhythmische Reizung. R. A.: 6 cm. Fr.: 120 (Abb. 2a). — 2<sup>h</sup> 25' 0,1%  $\text{CaCl}_2$  in Ringer. — Gegen 3<sup>h</sup> be-

ginnt die Fußpunktlinie des nur selten und während ganz kurzer Zeiten gereizten Muskels zu sinken an. — Um 4<sup>h</sup> befindet sich die Fußpunktlinie schon

<sup>1)</sup> *E. Frank*, Berl. klin. Wochenschr. 1920 und Kongreß d. D. Ges. f. Inn. Med. in Wiesbaden 1922.

<sup>2)</sup> *S. G. Zondek*, Deutsch. med. Wochenschr. 1921.

<sup>3)</sup> *Riesser u. Neuschlosz*, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **92**, 254. 1922.

weit unterhalb der Abscisse. — 4<sup>h</sup> 58' Rhythmische Reizung (Abb. 2b). — 5<sup>h</sup> 01' Rückversetzung des Muskels in reine Ringerlösung. — 5<sup>h</sup> 15', 5<sup>h</sup> 45', 6<sup>h</sup> 20', 7<sup>h</sup> 10' und 8<sup>h</sup> frische Ringerlösung. — 8<sup>h</sup> 05' Rhythmische Reizung. (Abb. 2c.)

Versuch 39. Temporaria . 28. X. 1921. (Abb. 3.)

Etwa eine halbe Stunde lang, nachdem der Muskel in die Calciumlösung versenkt worden ist, ist eine Wirkung überhaupt nicht nachweisbar. Einzelzuckungen, wie rhythmische Kontraktionsreihen erscheinen durchaus unverändert. Dann aber beginnt sich die Wirkung des Calciums langsam geltend zu machen. Sie äußert sich hauptsächlich in einem stufenweise einsetzenden *Abfall* der *Fußpunktlinie* des Muskels unter die Abszisse. Der Muskel wird andauernd länger und schlaffer und erreicht nach etwa zwei Stunden seinen Tiefpunkt. Die Erregbarkeit und die Contractilität des Muskels ist selbst in diesem Zustande der Norm gegenüber nicht oder nur unwesentlich herabgesetzt. (Abb. 2 b.)

Die Zeit, die zur vollen Entwicklung der Calciumwirkung erforderlich ist, ist außer von der Giftkonzentration namentlich davon abhängig,



4<sup>h</sup> 45'

4<sup>h</sup> 57'

Abb. 3.

ob der Muskel viel oder wenig gereizt wird. Bei einem Muskel, der sich in vollkommener Ruhe befindet, tritt die Wirkung verhältnismäßig schnell ein, sie kann aber durch häufiges Reizen stark verzögert, oder gar gänzlich aufgehalten werden. Ist die Wirkung jedoch einmal eingetreten, so läßt sie sich auch durch noch so starke Reizung nicht mehr aufheben. Reizen wir einen solchen mit Calcium vergifteten Muskel, nachdem die Verlängerung deutlich eingetreten ist, andauernd weiter, so zeigt er höchstens nur eine ganz vorübergehende Ermüdungscontractur, um dann allmählich wieder unter die Abszisse zu fallen. Auch die *Erschöpfung* des Muskels tritt bei immer kleiner werdenden Zuckungen im Zustande *maximaler Dehnung* ein. Selbst das Eintreten der *Totenstarre* wird durch Ca *verhindert* und der Muskel hält seine maximale Länge auch nach dem Absterben dauernd bei. Das eigentümliche Bild, welches ein mit Calcium vergifteter Muskel bei seiner Ermüdung dar- bietet, zeigt Abb. 3.

Versuch 39. Temporaria ♀. 28. X. 1921. (Abb. 3.)

11<sup>h</sup> 50' Suspension des Gastrocnemius in Ringerlösung. — 12<sup>h</sup> Rhythmischer Reizung. R. A.: 6 cm, Fr: 120. — 12<sup>h</sup> 02' CaCl<sub>2</sub> 0,1% in Ringerlösung. — Dann

bleibt der Muskel in vollkommener Ruhe bis 4<sup>h</sup> 44'. — 4<sup>h</sup> 45'—4<sup>h</sup> 57' Reizung des Muskels bis zur völligen Unerregbarkeit. (Abb. 3.)

In dem Stadium, welches durch Abb. 3 veranschaulicht wird, ist die Calciumwirkung kaum mehr reversibel; der Muskel stirbt bald, und zwar wie bereits erwähnt, im Zustande *maximaler Dehnung* ab. Wird hingegen das Ca in einem Zeitpunkte entfernt, in dem der Zustand des Muskels etwa der Abb. 2 b entspricht, und der Muskel hiernach wieder in reine Ringerlösung zurückversetzt, so beginnt seine Fußpunktlinie bald wieder zu steigen an, und erreicht, namentlich bei öfterem Wechsel der Ringerlösung, in einigen Stunden wieder ihre ursprüngliche Höhe (2c). Die Umkehr der Calciumwirkung wird durch öfteres, rhythmisches Reizen ganz wesentlich begünstigt, durch vollkommene Ruhe des Muskels hingegen verzögert. Es zeigt sich also auch hierin ein ausgesprochener Gegensatz zu dem Verhalten des mit Kalium vergifteten Muskels. Wir können diesen etwa folgendermaßen fassen. Während die *Kaliumwirkung* um so *früher* eintritt, je öfter wir den Muskel *reizen*, wird das Eintreten der *Calciumwirkung* durch die *Arbeit verzögert*. Dementsprechend begünstigt vollkommene *Ruhe* die *Erholung* nach *Kaliumvergiftung*, während die *Umkehr* der *Calciumwirkung* am *arbeitenden* Muskel schneller vor sich geht.

Nach dem oben Gesagten erachten wir nun die innere Unterstützung des Muskels als ein Maß für den Quellungs-zustand des Sarkoplasmas. Wir müssen demnach die Wirkungen des Kaliums und Calciums unter diesem Gesichtspunkte zu verstehen suchen. Die Wirkungen, die die Ionen der Neutralsalze auf den Quellungs-zustand von Kolloiden ausüben, sind aber, wie oben ebenfalls bereits hervorgehoben wurde, im allgemeinen bekannt. Vom Kalium müssen wir in diesem Sinne quellungs-begünstigende, vom Calcium entquellende Wirkungen — auch auf das Sarkoplasma — erwarten. Diese Erwartungen werden auch von dem Ergebnis der oben besprochenen Versuche erfüllt. Kalium begünstigt die Quellung des Sarkoplasmas und wirkt hierdurch fördernd auf die innere Unterstützung des Muskels, Calcium wirkt umgekehrt entquellend auf das Sarkoplasma und setzt den Muskeltonus herab. Durch diese Überlegungen wird es auch verständlich, daß Arbeit die Wirkung des Kaliums unterstützt, die Calciumwirkung hingegen hemmt. Muskularbeit geht mit Säurebildung einher und Säuren wirken quellungs-begünstigend auf das Sarkoplasma. Voll entwickelt sehen wir diese Wirkung der Säuren bei den von uns als „physiologische Säurecontracturen“ bezeichneten Zuständen, wie sie z. B. die Ermüdungscontractur darstellt. Eine qualitativ ähnliche Wirkung der bei der Kontraktion gebildeten Säuren müssen wir aber auch dann annehmen, wenn ihre Anhäufung nicht ausreicht, um eine merkliche Verkürzung des unvergifteten, normalen Muskels zu verursachen.



Durch die quellungsbegünstigende Wirkung des Kaliums werden die sonst unwirksamen Säuremengen wirksam, und es kommt zu einer Verkürzung des Muskels, die jedoch nur so lange fortbesteht, wie die Säurebildung, i. e. die Reizung anhält. Hört die Säurebildung auf, so fällt die Fußpunktlinie in wenigen Sekunden zur Abszisse herab. Je öfter wir den Muskel reizen, um so schneller steigt die Fußpunktlinie bei Beginn einer jeden Reizserie in die Höhe: ein Zeichen, daß die seit der vorhergegangenen Reizserie noch nicht beseitigten Säuremengen, — die ja bei Kleinerwerden der Ruhepausen an Größe immer zunehmen müssen — das Entstehen der neuerlichen Contractur begünstigen. Für diese Erscheinung gibt es noch eine Erklärungsmöglichkeit, die namentlich durch die Untersuchungen von *Vogel*<sup>1)</sup> (unter *Embdens*) nahegelegt werden. *Vogel* beobachtete nämlich, daß die Lähmung, in die der Muskel in Gegenwart hoher Kaliumkonzentrationen fällt, um so rascher eintritt, je öfter der Muskel gereizt wird. Diese Tatsache wurde von genanntem Autor in *Embdens* Sinne so gedeutet, daß infolge der Reizung die Permeabilität der Muskelgrenzschichten erhöht wird und das Kalium daher schneller in den Muskel einzudringen vermag. Es ist natürlich zunächst nicht von der Hand zu weisen, daß für die ganz andersartigen Wirkungen verhältnismäßig kleiner Kaliumkonzentrationen, wie sie hier beschrieben wurden, zwischen der Häufigkeit der Reizung und dem Eintreten der Giftwirkung ähnliche Beziehungen bestehen. Gegen eine derartige Annahme spricht jedoch der Umstand, daß für das Zustandekommen der Calciumwirkung die Reizung des Muskels eine gerade entgegengesetzte Bedeutung hat, als beim Kalium, was nicht der Fall sein dürfte, wenn durch die Häufigkeit der Reizung lediglich die Geschwindigkeit beeinflusst würde, mit welcher die Ionen in den Muskel einzudringen vermögen. Mit Hilfe der *Embdens*chen Permeabilitätstheorie allein läßt sich demnach eine hinreichende Erklärung der beobachteten Tatsachen nicht geben, während wir eine solche auf Grund der obigen Auseinandersetzungen ohne Schwierigkeit zu finden instande waren.

#### *Der Einfluß von K und Ca auf die Entstehung der Veratrinzuckung.*

Über dieses Thema liegen bereits eine Anzahl von Arbeiten vor. Daß ein kleiner Überschuß von K in der Ringerlösung die Veratrinzuckung prompt aufzuheben vermag, dürfte wohl zum ersten Male von *Locke*<sup>2)</sup> beobachtet worden sein. Diese Tatsache wurde dann durch *Buchanan*<sup>3)</sup>, *Botazzi*<sup>4)</sup> und *Lamm*<sup>5)</sup> bestätigt. Auch ich konnte die Erscheinung immer wieder beobachten; meine Versuche verliefen im wesentlichen wie der folgende.

<sup>1)</sup> *Vogel*, Zeitschr. f. physiol. Chemie **118**, 50. 1922.

<sup>2)</sup> *Locke*, Journ. of exper. med. **1**, 4. 1896.

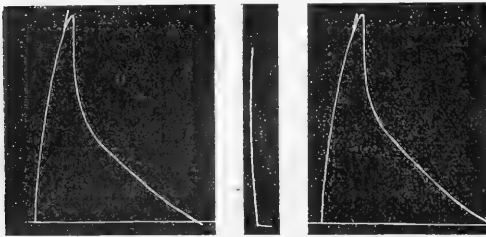
<sup>3)</sup> *Buchanan*, Journ. of Physiol. **25**, 137. 1899.

<sup>4)</sup> *Botazzi*, a. a. O.

<sup>5)</sup> *Lamm*, Zeitschr. f. Biol. **38**, 223, **40**, 37. 1911.

Versuch 47. Temp. ♀, 3. XI. 1921. (Abb. 4.)

Suspension des Gastrocnemius um 11<sup>h</sup> in Ringerlösung. — 11<sup>h</sup> 10' Reizung mit Einzelschlägen (R.A.: 6 cm). — 11<sup>h</sup> 12' Veratrin-chlorhydrat 1 : 100000 in



a)

b)

c)

Abb. 4 a—c.

Ringerlösung. — 11<sup>h</sup> 20' Reizung mit Einzelschlägen (Abbildung 4a). — 11<sup>h</sup> 23' KCl 0,1% in Ringerlösung (ohne Veratrin). — 11<sup>h</sup> 37' Reizung mit Einzelschlägen (Abb. 4b). — 11<sup>h</sup> 38' Wechsel gegen reine Ringerlösung. — 11<sup>h</sup> 55' Reizung mit Einzelschlägen (Abbildung 4c).

Wird ein Muskel, welcher typische Veratrinzuckungen ausführt, nachträglich mit KCl behandelt, so verschwinden die Veratrinzuckungen in sehr kurzer Zeit. Wird diese Flüssigkeit jedoch gegen reine Ringerlösung gewechselt, so treten die Veratrinzuckungen bereits in wenigen Minuten wieder auf, als Beweis dessen, daß das Veratrin, trotz des zweimaligen Wechsels gegen veratrinfreie Lösung, noch in genügenden Mengen am Muskel haften blieb, um typische Doppelzuckungen herbeizuführen und lediglich so lange hieran verhindert war, als der Muskel sich in der stark kaliumhaltigen Lösung befand. Dies stimmt mit der bekannten hochgradigen Adsorbierbarkeit des Veratrins durchaus überein. Das Kalium scheint hingegen nur ganz oberflächlich am Muskel zu haften, da seine Wirkung bereits durch einfaches Wechseln gegen reine Ringerlösung beseitigt werden kann. Demgegenüber steht die oben erwähnte Tatsache, daß die Wirkung des Kaliums auf den nicht mit Veratrin vergifteten Muskel nur sehr allmählich und durch öfteres Wechseln der Ringerlösung rückgängig gemacht werden kann. Auf die theoretische Bedeutung dieses Gegensatzes werden wir später noch zurückzukommen haben.

Wesentlich komplizierter als beim Kalium liegen die Verhältnisse beim *Calcium*. Dies geht bereits aus den Angaben früherer Autoren hervor. Während nämlich einerseits *Jacoby*<sup>1)</sup> und *Lamm*<sup>2)</sup> von einer Aufhebung der Veratrinzuckung durch Calcium sprechen, konnte andererseits *Robertson*<sup>3)</sup> eine Begünstigung der Veratrinwirkung durch Calciumzusatz beobachten. Nach meinen eigenen, ziemlich ausgedehnten Untersuchungen sind beide Fälle möglich<sup>4)</sup>. Die Wirkung des Calciums

<sup>1)</sup> *Jacoby*, Münch. med. Wochenschr.

<sup>2)</sup> *Lamm*, a. a. O.

<sup>3)</sup> *Robertson*, Journ. of Biochem.

<sup>4)</sup> Zu einem im wesentlichen ähnlichen Schlusse kommt auch *Somei To* in einer Arbeit, die mir jedoch erst zu einer Zeit bekannt wurde, als die vorliegenden Untersuchungen in ihrem experimentellen Teil bereits abgeschlossen waren. (*Acta scholae med. univ. imp. Kioto* 4, 31. 1921.)

ist hiernach weitgehend von seiner Konzentration abhängig. *Kleine* Konzentrationen (zwischen 0,05–0,1%) begünstigen das Zustandekommen der Veratrinzuckung sehr deutlich. Die Wirkung äußert sich hauptsächlich darin, daß unterschwellige Veratrskonzentrationen wirksam werden, wenn der Lösung nachträglich etwa 0,1%  $\text{CaCl}_2$  hinzugefügt wird. Dies geht mit aller Deutlichkeit aus folgendem Versuch hervor.

*Versuch 52.* Temp.  $\sigma$ , 5. XI. 1921. (Abb. 5.)

Suspension des Gastrocnemius in Ringerlösung um 10<sup>h</sup> 30'. — 10<sup>h</sup> 35' Reizung mit Einzelschlägen (R. A.: 6 cm). (Abb. 5a.) — 10<sup>h</sup> 38' Veratrin-chlorhydrat 1 : 1000000 in Ringerlösung. — 10<sup>h</sup> 59' Reizung mit Einzelschlägen. (Abb. 5b.) 11<sup>h</sup> Veratrin-chlorhydrat 1 : 1000000 +  $\text{CaCl}_2$  0,1%. — 11<sup>h</sup> 10' Reizung mit Einzelschlägen. (Abb. 5c.)

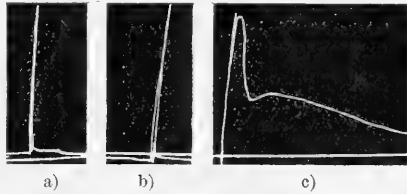


Abb. 5 a–c.

Ganz anders verhält sich hingegen der mit Veratrin vergiftete Muskel, wenn er gleichzeitig oder nachträglich verhältnismäßig große Mengen Calcium erhält. Von etwa 0,3% an hemmt  $\text{CaCl}_2$  das Auftreten von Veratrinzuckungen mit Sicherheit. Dosen zwischen 0,1% und 0,3% sind in ihrer Wirkung unberechenbar und wirken einmal begünstigend, einmal hemmend, wenn auch letzteres häufiger der Fall sein dürfte<sup>1)</sup>.

*Versuch 54.* Temp. 7. XI. 1921. (Abb. 6.)

Suspension des Gastrocnemius in Ringerlösung um 10<sup>h</sup> 30'. — 10<sup>h</sup> 35' Reizung mit Einzelschlägen (R. A.: 6 cm). — 10<sup>h</sup> 36' Veratrin-chlorhydrat 1 : 1000000 in Ringerlösung. — 10<sup>h</sup> 48' Reizung mit Einzelschlägen. (Abb. 6a.) — 10<sup>h</sup> 50' Veratrin-chlorhydrat 1 : 1000000. —  $\text{CaCl}_2$  0,4%. — 11<sup>h</sup> 53' Reizung mit Einzelschlägen. (Abb. 6b.) — 10<sup>h</sup> 54' 1 Minute andauernde rhythmische Reizung des Muskels. (Fr.: 120.) — 10<sup>h</sup> 56' Reizung mit Einzelschlägen. (Abb. 6c.) — 11<sup>h</sup> 08' Reizung des Muskels mit Einzelschlägen. (Abb. 6d.)

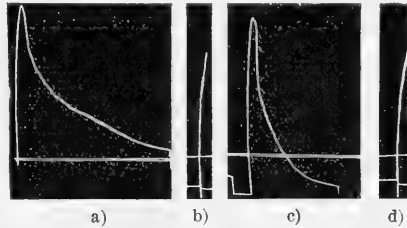


Abb. 6 a–d.

Aus dem angeführten Versuch geht außer der bereits erwähnten Tatsache, daß hohe Calciumkonzentrationen die Fähigkeit des Muskels, typische Veratrinzuckungen auszuführen, aufzuheben vermögen, noch etwas hervor. Es ist seit langem wohl bekannt, daß man durch rhythmische Reizen die typischen Doppelzuckungen eines mit Veratrin ver-

<sup>1)</sup> Obige Versuche sind ausnahmslos im Herbst ausgeführt worden. Bei der bekannten Abhängigkeit im Verhalten z. B. des Froschherzens gegenüber K und von den Jahreszeiten ist es durchaus möglich, daß zu einer anderen Jahreszeit die quantitativen Verhältnisse auch hier eine Verschiebung erfahren.

gifteten Muskels vorübergehend zum Verschwinden bringen kann. Wir haben diese Erscheinung mit *Riesser*<sup>1)</sup> so gedeutet, daß durch die bei der Arbeit gebildeten Säuren die Grenzschichten — im Sinne *Embdens*<sup>2)</sup> — aufquellen und die durch das Veratrin bedingte Dichtung derselben hierdurch vorübergehend aufgehoben wird. Bei einem mit Calcium behandelten Veratrinmuskel hat die rhythmische Reizung, wie dies aus dem obigen Versuch 54 ersichtlich ist, eine wesentlich andere Wirkung. Hier verursacht die *Reizung* im Gegensatz zu ihrer sonstigen Wirkung ein *Wiederauftreten* der durch das Calcium aufgehobenen *Doppelzuckung*. Diese Tatsache, die unter anderem auf Grund unserer theoretischen Überlegungen als wahrscheinlich *vorausgesagt* werden konnte, scheint mir nun ein gewichtiges Argument für die Stichhaltigkeit unserer Anschauungen zu sein. Es soll demnach im folgenden der Versuch gemacht werden, auf Grund dieser eine *Erklärung* für das beobachtete Verhalten von K und Ca gegenüber dem mit Veratrin vergifteten Muskel zu geben.

Was zunächst die Wirkung des *Kaliums* betrifft, so scheint auf den ersten Blick ein gewisser *Gegensatz* zu bestehen zwischen dem Verhalten desselben, wenn es *alleine* und wenn es in *Kombination* mit *Veratrin* zur Wirkung gelangt. Im ersten Falle beeinflußt das Kalium die innere Unterstützung des Muskels durchaus im Sinne einer *Verstärkung*; die *Doppelzuckung* des Veratrinmuskels, die ja auch als ein Zeichen einer erhöhten inneren Unterstützung des Muskels angesehen werden muß, wird hingegen durch Kalium *glatt aufgehoben*. Dies kann m. E. nur so gedeutet werden, daß das Kalium in den beiden Fällen *verschiedene Angriffspunkte* hat. Wie wir uns die reine Kaliumwirkung vorstellen können, ist bereits im vorigen Abschnitt besprochen worden. Die Erhöhung der inneren Unterstützung, die der Muskel auf *Einwirkung* von Kalium erfährt, wurde dort als Folge einer *Quellungsbegünstigung* im Sarkoplasma ausgelegt. Die quellungsbegünstigende Wirkung des Kaliums beschränkt sich aber offenbar nicht lediglich auf das Innere des Sarkoplasmas, sondern erstreckt sich auch auf die *Grenzschichten*. Aus vorhergegangenen Untersuchungen wissen wir aber, daß eine der Grundbedingungen für das Zustandekommen von *Doppelzuckungen* eine *Entquellung* und hierdurch bedingte *Abdichtung* der Fasergrenzschichten ist. Wenn diese durch Kalium aufgehoben wird, — ähnlich wie dies nach den Untersuchungen von *Embden* und *Adler*<sup>3)</sup> durch Rohrzucker geschieht — so ist es klar, daß es gleichzeitig zu einem Verschwinden der *Doppelzuckungen* kommen muß.

<sup>1)</sup> *Riesser* und *Neuschloz*, a. a. O.

<sup>2)</sup> *Embden* und *Adler*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **118**, 1. 1922.

<sup>3)</sup> *Embden* und *Adler*, a. a. O.

Nun konnte aber *Vogel*<sup>1)</sup> in seiner bereits erwähnten, unter *Embdens* Leitung ausgeführten Arbeit eine Permeabilitäts-erhöhung durch die Einwirkung von Kalium nicht nachweisen. *Embdens* ist daher geneigt, den Angriffspunkt des Kaliums — im Gegensatz zu dem des Rohrzuckers und der indifferenten Narkotica — in das *Innere* der Muskelfaser zu verlegen. Diese Anschauung entspricht durchaus der auch von uns entwickelten Vorstellung über die Wirkungsweise des *allein* verwendeten Kaliums, die wir — bei den von uns gebrauchten kleinen Mengen — als eine Quellungsbegünstigung im *Sarkoplasma* auffassen.

Ganz anders gestaltet sich jedoch die Kaliwirkung an einem mit Veratrin vorbehandelten Muskel. Nach von mir ausgeführten Versuchen *erhöht* Kalium die infolge der Veratrinwirkung herabgesetzte *Phosphorsäureausscheidung* des Muskels ebenso, wie dies in einer früheren Arbeit für Rohrzucker gezeigt werden konnte. Wir kommen also zu dem oben bereits angedeuteten Schluß, daß das Kalium die Faser-grenzschichten des Veratrinmuskels zum Aufquellen bringt und hierdurch die Veratrinwirkung aufhebt.

Die beiden, scheinbar entgegengesetzten Wirkungen des Kaliums lassen sich demnach ohne Schwierigkeiten unter dem *gemeinsamen Gesichtspunkte* der *Quellungsbegünstigung* durch Kalium erklären. Es ergibt sich nur noch die Frage, warum in dem Falle der *reinen* Kaliumwirkung der Einfluß desselben auf das *Innere* des Sarkoplasmas, in Gegenwart von *Veratrin* hingegen der Einfluß auf die *Grenzschichten* das Bild beherrscht. Diese Tatsache läßt sich nun, wie ich glaube, auf folgende Weise begründen. Für das Zustandekommen der *erhöhten Contracturbereitschaft* des Muskels bei rhythmischer Reizung scheint lediglich der Quellungs-zustand des *Sarkoplasmas* maßgebend zu sein. Bei der andauernden Reizung des Muskels ist die Säurebildung dermaßen gesteigert, daß es ungeachtet des Zustandes der Grenzschichten zum Auftreten eines Verkürzungsrückstandes kommen muß, wenn nur die *Anspruchsfähigkeit* des Sarkoplasmas Säure gegenüber eine genügende ist. Wenn das Kalium also neben seiner Wirkung auf das Sarkoplasma die Grenzschichten auch durchlässiger macht, so wird hierdurch die Aufquellung des ersteren bei andauernder Säurebildung, wie sie bei rhythmischer Reizung vor sich geht, nicht merklich beeinflußt. Die Verhältnisse liegen hier offenbar ganz ähnlich, wie bei der Erstickung des Muskels. Sauerstoffmangel führt zu einer Anhäufung von Säuren im Muskel, die nun ihrerseits Contractur verursachen. *Simon*<sup>2)</sup> (unter *Embdens*) konnte aber zeigen, daß diese Contractur von einer erhöhten Phosphorsäureausscheidung, also von einer Permeabilitätssteigerung begleitet wird. Auch hier kommt es also zu einer Auf-

<sup>1)</sup> *Vogel*, a. a. O.

<sup>2)</sup> *Simon*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **118**, 96. 1922.

quellung des Sarkoplasmas durch die angehäuften Säuren trotz beschleunigten Abflusses derselben durch die aufgelockerten Grenzschichten. Für die Coffeincontractur dürfte nach den von *Riesser* und *mir*<sup>1)</sup> ausgeführten Untersuchungen im wesentlichen dasselbe gelten.

Anders aber liegen die Sachen bei der *Veratrinzuckung*. Obwohl die Quellungsbegünstigung, die das Sarkoplasma durch die minimalen Mengen des eingedrungenen Veratrin erfährt, eine nicht unwesentliche Bedingung für das Zustandekommen der Doppelzuckung darstellen dürfte, so müssen wir doch die *Abdichtung* der Grenzschichten und die Verhinderung des Säureabflusses als das ausschlaggebende Moment der Veratrinwirkung ansehen. Da die Säurebildung unter der Einwirkung des Veratrin keine Erhöhung erfährt, so bedarf es einer Hemmung im Säureabfluß, um im Sarkoplasma eine Säurekonzentration herbeizuführen, die zu einer merklichen Aufquellung des letzteren ausreicht. Wird die Durchlässigkeit der Grenzschichten durch Kalium erhöht und der Säureabfluß demzufolge auf seine normale Höhe zurückgeführt, so wird hierdurch auch die Veratrinzuckung beseitigt.

Daß die Wirkung des Kaliums auf die Veratrinzuckung sich an einer *oberflächlicheren* Stelle der Muskelfaser abspielt, als die des allein verwendeten Kaliums, geht auch aus der *Geschwindigkeit* hervor, mit welcher die beiderlei Wirkungen des Kaliums durch Ringerlösung wieder rückgängig gemacht werden können. Wird ein mit *Veratrin* und KCl behandelter Muskel auch nur einmal mit reiner Ringerlösung abgespült, so kommt die Veratrinzuckung unfehlbar wieder zum Vorschein: ein Zeichen, daß die Kaliwirkung eine nur ganz *oberflächliche* sein konnte. Im Gegensatz hierzu wird die Contracturbereitschaft des Muskels, die durch *allein* angewandtes Kalium hervorgerufen wurde, nur durch häufiges Wechseln der Ringerlösung und nach längerer Zeit wieder beseitigt, was durchaus in dem Sinne spricht, daß die Kaliwirkung in diesem Falle sich an *tieferliegenden* Teilen des Muskels abspielen dürfte. Diese Tatsachen stehen also auch in Einklang mit unseren auf anderem Wege gewonnenen Anschauungen.

Ähnlich wie für die Wirkung des Kaliums müssen wir auch für die des *Calciums* zwei *Angriffspunkte* annehmen, nur wirkt das Calcium im Gegensatz zum Kalium in jedem Falle *entquellend*. Bei der reinen Calciumwirkung richtet sich diese Wirkung in erster Reihe auf das Sarkoplasma. Durch das langsam eindringende Calcium wird dieses stufenweise zur Entquellung gebracht, wodurch es, wie oben dargestellt wurde, zu einer Abnahme des Muskeltonus und einem Abfall der Fußpunktlinie unter die Abszisse kommt. Je weniger der Muskel gereizt wird, um so schneller tritt diese Wirkung ein, denn um so geringfügiger ist die Säurebildung im Muskel, die ihrerseits die Quellung des Sarko-

<sup>1)</sup> *Riesser* und *Neuschlosz*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **93**, 163. 1922.

plasmas begünstigt, dem Calcium also entgegenwirkt. Auch der Eintritt der *Totenstarre*, die ja nach den Untersuchungen von *Fürth*<sup>1)</sup> und von *Winterstein*<sup>2)</sup> als eine Folge der Säurequellung anzusehen ist, wird durch genügende Mengen Calcium verhindert, was auch als Entquellung aufgefaßt werden muß.

Auf analoge Weise wirkt das Calcium auch auf den mit *Veratrin* vergifteten Muskel, wenn es nur in ausreichender Menge hinzugefügt wird. Durch die Entquellung des Sarkoplasmas, die durch das Calcium bewirkt wird, verliert der *Veratrin*muskel die Fähigkeit, *Doppelzuckungen* auszuführen. Dies muß verständlich erscheinen, wenn wir uns vergegenwärtigen, daß nach unseren früheren Erörterungen die zweite Erhebung der typischen *Veratrin*wirkung als eine Folge der Aufquellung des Sarkoplasmas durch die in ihrem Abfluß verhinderten Säuren anzusehen ist. Diese Sarkoplasmaquellung wird durch Calcium ebenso gehemmt, wie die, die dem Muskeltonus oder der *Totenstarre* zugrunde liegt. Diese Tatsache spricht also ebenfalls in dem Sinne, daß wir es in allen diesen Erscheinungen mit dem Ausdrucke einer und derselben Grundfunktion des Muskels zu tun haben, eben mit der, die wir schlechthin als *Tonus* zu bezeichnen gewohnt sind.

Wir sahen aber, daß kleine Calciumkonzentrationen einen gegen-  
teiligen Effekt auf das Zustandekommen der *Veratrin*zuckung haben,  
wie die größeren, indem sie dieselbe merklich begünstigen. Manchmal  
läßt es sich sogar beobachten, daß auch größere Calciumkonzentrationen  
zunächst die *Veratrin*wirkung verstärken, um sie im späteren Verlaufe  
ihrer Wirkung zu hemmen und schließlich völlig aufzuheben. Auch  
diese Tatsache wird begreiflich, wenn wir daran denken, daß die zwei-  
wertigen Ionen im allgemeinen *schlechter* und *langsamer* durch Mem-  
branen hindurch *diffundieren* als die einwertigen. Die Grenzschichten  
der Muskelfasern, denen wir, wie bereits oben hervorgehoben wurde,  
Membraneigenschaften zusprechen müssen, werden demzufolge ein  
wesentlich größeres Hindernis für den Durchtritt der Calciumionen  
darstellen, als es z. B. beim Kalium der Fall war. Hieraus folgt aber,  
daß die Wirkung des Calciums in der ersten Zeit, bei kleinen Mengen  
auch längere Zeit hindurch auf die Grenzschichten beschränkt bleiben  
muß, während das Innere der Faser, also auch das Sarkoplasma, zu-  
nächst frei von eingedrungem Calcium bleiben wird. Daß das Calcium  
stets nur langsam in den Muskel einzudringen vermag, geht bereits  
daraus hervor, daß die Tonusabnahme des Muskels in Gegenwart von  
Calcium immer nur nach mehreren Stunden in merklichem Grade her-  
vortritt. Noch intensiver wird das Calcium an den Grenzschichten  
zurückgehalten, wenn dieselben durch vorhergegangene Behandlung mit

<sup>1)</sup> *v. Fürth*, a. a. O.

<sup>2)</sup> *Winterstein*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **191**, 184. 1921.

Veratrin eine Abdichtung erfahren haben. In diesem Falle summieren sich die entquellenden Wirkungen des Veratrins und des Calciums und die Veratrinzuckung wird verstärkt. Wenn dann — bei höheren Calciumkonzentrationen — das Calcium allmählich doch in das Innere der Fasern vordringt, so kommt es auch zu einer Entquellung des Sarkoplasmas und hiermit zu einer Aufhebung der Doppelzuckungen.

Die Beseitigung der Veratrinzuckung beruht also — im Gegensatz zur gleich erscheinenden Wirkung des Kaliums — beim Calcium nicht auf einer Änderung im Zustande der Grenzschichten, sondern auf einer *Entquellung* des Sarkoplasmas. Dies macht es auch verständlich, daß die Wiederherstellung der Doppelzuckungen nach Calciumbehandlung mit reiner Ringerlösung wesentlich länger dauert und öfteres Spülen beansprucht, als dies beim Kalium der Fall war. Verhältnismäßig schnell und leicht läßt sich hingegen die Veratrinzuckung, wie wir sahen, — wenn auch nur auf kurze Zeit — wieder zum Vorschein bringen, wenn wir den Muskel einige Sekunden hindurch rhythmisch reizen. Bei den Kontraktionen wird eben *Säure* gebildet und diese wirkt quellungsbegünstigend auf das Sarkoplasma. Es wird also die entquellende Wirkung des Calciums vorübergehend aufgehoben. Wird die Säure in der Ruhe allmählich beseitigt, dann tritt die Calciumwirkung wieder auf und die Veratrinzuckung verschwindet abermals.

Durch die relativ einfache Annahme *zweier Angriffspunkte* für die Wirkung von Kalium und Calcium gelingt es also, die große Mannigfaltigkeit der Erscheinungen, die den Einfluß der beiden Ionen auf die tonische Komponente der Muskelzuckung auszeichnet, ohne Schwierigkeit zu erklären. Auch die Tatsache, daß K und Ca, die allgemein als gegenseitige Antagonisten gelten, jedes für sich, wenn auch auf durchaus verschiedene Weise die Veratrinzuckung aufzuheben vermögen, erscheint im Lichte dieser Betrachtungen als verständlich.

#### *Die Wirkung des Bariums.*

Nachdem die Wirkung von K und Ca auf den tonischen Anteil der Muskelzuckung in ihren wesentlichen Zügen klargelegt worden war, fragte es sich, wie sich andere Ionen in dieser Hinsicht verhalten. Ein besonderes Interesse kam hierbei dem Barium zu, dessen eigenartige Wirkungen auf den quergestreiften Muskel schon öfters den Gegenstand von Untersuchungen bildeten. Nach dem bisher befolgten Verfahren sollen auch beim Barium einerseits seine Wirkung auf die innere Unterstützung des rhythmisch gereizten Muskels, andererseits auf die Veratrinzuckung besprochen werden. Der Einfluß des Bariums auf den rhythmisch gereizten Muskel geht aus folgendem Versuch hervor.

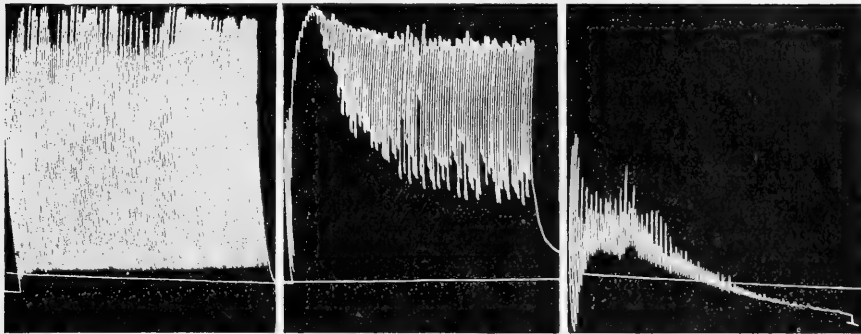
*Versuch 101.* Temp. ♂, 14. XII. 1921. (Abb. 7.)

Suspension des Gastrocnemius in Ringerlösung um 4<sup>h</sup>. — 4<sup>h</sup> 10' Rhythmische Reizung (R.A.: 12 cm, Fr.: 120). (Abb. 7a.) — 4<sup>h</sup> 12' BaCl<sub>2</sub> 1 : 1000 in Ringer-



lösung. — 4<sup>h</sup> 46' Rhythmische Reizung. (Abb. 7b.) — 4<sup>h</sup> 50' BaCl<sub>2</sub> 1 : 500 in Ringerlösung. — 7<sup>h</sup> 36' Rhythmische Reizung. (Abb. 7c.)

Es zeigt sich in diesem Versuche, daß Bariumchlorid zunächst eine Erhöhung der inneren Unterstützung des Muskels herbeiführt, sich in dieser Hinsicht also gegensätzlich verhält, wie das ihm chemisch



a)

b)

c)

Abb. 7 a—c.

nahestehende Calcium. Daß es sich aber hier um eine ganz anders geartete Wirkung handelt als beim Kalium, welches ja die innere Unterstützung des Muskels ebenfalls erhöht, wird bei einem eingehenden Vergleich der Abb. 7 b mit 1 b augenfällig. Die Erhöhung der Fußpunktlinie unter der Einwirkung von Kalium wird bei zunehmender Dauer der Muskelreizung immer ausgesprochener, wie ja dies bei der einfachen Summation der quellungsbegünstigenden Wirkung des Kaliums und der Säuren auch nicht anders zu erwarten war. Ein völlig anderes Aussehen hat hingegen das Myogramm des Bariummuskels. Hier wird der Höhepunkt der Verkürzung bereits nach wenigen Kontraktionen erreicht und von da an fällt die Fußpunktlinie der Kurve trotz andauernder Reizung wieder ab. Von einer Summation der Bariumwirkung mit den bei der Reizung gebildeten Säuren kann also nicht die Rede sein. Eine quellungsbegünstigende Wirkung des *Bariumions* auf Kolloide ist aber auch niemals beobachtet worden, vielmehr wirkt das Barium, soweit hierüber Untersuchungen vorliegen, stets *entquellend* auf Kolloide. Wir haben also auch in dem vorliegenden Falle keine Veranlassung, dem Barium andere, als entquellende Wirkungen zuzuschreiben. Nun wissen wir aber vom Barium andererseits, daß seine *Diffusibilität* noch merklich *geringer* ist, als die des Calciums; nach dem oben Gesagten müssen wir also erwarten, daß es von den *Fasergrenzschichten* noch länger zurückgehalten wird, als dies beim Calcium der Fall war. Seine Wirkung wird daher zunächst lediglich auf die Grenzschichten beschränkt bleiben, und zwar wird es dieselben abdichten. Ein Muskel, dessen Fasergrenzschichten abgedichtet sind,

muß sich aber bei rhythmischer Reizung unseren Anschauungen nach genau so verhalten, wie wir dies beim Bariummuskel sahen. Wenn nämlich die bei der Reizung gebildeten Säuren infolge des Verschlusses der Grenzschichten nicht abfließen können, so muß es bereits nach wenigen Kontraktionen zu einer Anhäufung von Säure im Sarkoplasma kommen, die eine Contractur verursachen wird. Erreicht jedoch die Säuerung in der Muskelfaser eine gewisse Höhe, so quellen nach dem Sarkoplasma allmählich auch die Grenzschichten auf. Durch die aufgequollenen Grenzschichten kann aber die Säure wieder abfließen, so daß auch die Contractur sich zurückbilden muß. Die Muskelkurve (Abb. 7b) entspricht diesen aus theoretischen Überlegungen aufgestellten Forderungen in vollem Maße, so daß wir das Verhalten des mit  $\text{BaCl}_2$  behandelten Muskels auch als eine Stütze unserer Anschauungen ansehen zu dürfen glauben.

Ein wesentlich anderes Bild weist das Myogramm auf, wenn der Muskel mehrere Stunden lang unter der Einwirkung hoher  $\text{BaCl}_2$ -Konzentrationen gestanden hat (Abb. 7c). Während dieser Zeit ist die Fußpunktlinie allmählich unter die Abszisse gesunken und eine Contractur tritt bei rhythmischer Reizung nur ganz vorübergehend und in sehr unvollkommener Weise auf. Im wesentlichen bietet also die Bariumvergiftung des Muskels in diesem zweiten Stadium ein ähnliches Bild, wie wir es bei der Calciumwirkung gesehen haben. Bei der Besprechung der letzteren führten wir diesen Erscheinungskomplex auf die Entquellung des Sarkoplasmas zurück. Dieselbe Erklärung dürfte auch für die Bariumwirkung zutreffen. Wir müssen eben annehmen, daß bei hohen Konzentrationen und langer Einwirkungsdauer auch das Barium in das Innere der Muskelfaser vordringt und das Sarkoplasma zum Entquellen bringt. Die Erscheinungen, die die Entquellung des Sarkoplasmas verursacht, werden aber die gleichen sein, gleichgültig, ob sie durch Barium oder durch Calcium herbeigeführt worden sind. Der einzige Unterschied, welcher zwischen den beiden Wirkungen zu bestehen scheint, ist, daß die Bariumwirkung in ihrer zweiten Phase irreversibel ist. Wenn das Barium bereits die Ermüdungscontractur des Muskels zu unterdrücken vermag, so stirbt auch der Muskel — ohne totenstarr zu werden — rasch ab. Derartig hohe Giftkonzentrationen dürften wohl auch für die Fibrillen und den ganzen Stoffwechselapparat des Muskels nicht gleichgültig sein.

Die *Veratrinzuckung* wird durch Bariumchlorid im allgemeinen außerordentlich begünstigt, was unter anderem z. B. aus folgendem Versuch hervorgeht.

*Versuch 107.* Temp. ♀, 17. XII. 1921. (Abb. 8.)

Suspension des Gastrocnemius in Ringerlösung um 11<sup>h</sup> 15'. — 11<sup>h</sup> 20' Einzelöffnungsschlag (R.A.: 6 cm). (Abb. 8a.) — 11<sup>h</sup> 24' Veratrin. hydrochl. 1 : 10000000 in Ringer. — 11<sup>h</sup> 56' Einzelöffnungsschlag. (Abb. 8b.) — 11<sup>h</sup> 57' Veratrin. hy-

drochl. 1 : 1000000  $\text{BaCl}_2$  1 : 1000. — 12<sup>h</sup> 05' Einzelöffnungsschlag. (Abb. 8c.)  
 12<sup>h</sup> 10' Veratrin. hydrochl. 1 : 1000000  $\text{BaCl}_2$  1 : 500. — 1<sup>h</sup> 15' Einzelöffnungsschlag. (Abb. 8a.)

$\text{BaCl}_2$  begünstigt also die Veratrinzuckung noch in Konzentrationen, in denen  $\text{CaCl}_2$  bereits eine Hemmung derselben bewirkt. Auch diese Erscheinung läßt sich ohne Schwierigkeit von dem Gesichtspunkte aus erklären, daß das Barium nur äußerst schwer in das Innere der Muskelfaser einzudringen vermag. Es bleibt also die entquellende Wirkung des Bariums — ähnlich wie die des nur in geringen Mengen angewandten Calciums —

auf die Grenzschichten beschränkt. Die abdichtende Wirkung des Veratrins wird durch das Barium verstärkt und die Doppelzuckung demzufolge begünstigt. Eine Aufhebung der Veratrinzuckung, wie wir sie bei größeren Calciumkonzentrationen sahen, läßt sich mittels Barium — wohl ebenfalls infolge der geringen Eindringungsfähigkeit der Bariumionen — nur schwer herbeiführen. Die hierzu erforderlichen Bariumkonzentrationen sind in den meisten Fällen bereits so hoch, daß sie gleichzeitig mit dem Veratrineffekt auch die Zuckung selbst aufheben. In einzelnen Fällen gelingt es jedoch, die zweite Erhebung in ihrer Höhe mindestens merklich herabzusetzen, noch bevor die Erregbarkeit des Muskels erloschen ist (Abb. 8d). In diesen Fällen können wir, ähnlich wie beim Calcium, eine entquellende Wirkung des Bariums auf das Sarkoplasma annehmen<sup>1)</sup>.

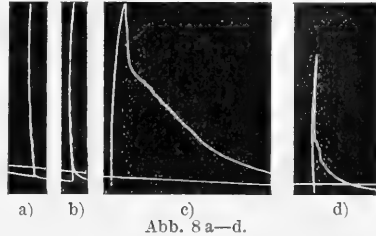


Abb. 8 a—d.

#### *Die Wirkung calciumfällender Anionen auf die Muskelzuckung.*

Nachdem der Nachweis erbracht worden ist, welche große Bedeutung das Calcium für den tonischen Anteil der Muskelzuckung besitzt, lag die Frage nahe, welchen Einfluß solche Elektrolyten auf den *Ablauf der Kontraktion* haben, deren Anionen unlösliche Calciumsalze bilden, und demzufolge den normalen Calciumgehalt der Muskelfaser herabsetzen. Die am besten bekannten calciumfällenden Salze sind die *Oxalate*, die *Citrate* und die *Fluoride*.

Hohe Konzentrationen dieser Salze verursachen bekannterweise fibrilläre Zuckungen. Den von mir verwendeten geringen Mengen der calciumfällenden Ionen geht diese Wirkung ab und sie lassen auch die Erregbarkeit des Muskels längere Zeit hindurch unbeeinflusst. Eine

<sup>1)</sup> Der experimentelle Teil meiner Untersuchungen über die Bariumwirkung wird von *Somei To* in einer vor kurzem erschienenen Arbeit in allen wesentlichen Punkten bestätigt. (Acta Scholae med. univ. imp. Kioto 4, 31. 1921.)

deutliche *Veränderung* erfährt hingegen unter der Einwirkung geringer Mengen von Oxalaten und Citraten die *Form* der Muskelkurven, indem in Gegenwart dieser Substanzen der Muskel bereits nach kurzer Zeit eigenartige — in vieler Hinsicht der Veratrinzuckung ähnelnde *Doppelzuckungen* ausführt<sup>1)</sup>. Dieses Verhalten der Muskeln soll durch je ein Beispiel für Natriumoxalat und Natriumcitrat veranschaulicht werden.

*Versuch 58.* Temp. ♂, 8. XI. 1921. (Abb. 9.)

Suspension des Gastrocnemius in Ringerlösung um 10<sup>h</sup> 40'. — 10<sup>h</sup> 44' Einzelöffnungsschlag (R.A.: 8 cm.) (Abb. 9a.) — 10<sup>h</sup> 47' *Natriumoxalat* in 1 : 1000 *calciumfreier* Ringerlösung. — 10<sup>h</sup> 58' Einzelöffnungsschlag (Abb. 9b). — 11<sup>h</sup> 01' *Natriumoxalat* 1 : 300. — 11<sup>h</sup> 04' Einzelöffnungsschlag (Abb. 9c.) — 11<sup>h</sup> 05' bis 11<sup>h</sup> 10' Rhythmische Reizung (Fr.: 120). — 11<sup>h</sup> 11' Einzelöffnungsschlag (Abb. 9d).

*Versuch 62.* Temp. ♀, 9. XI. 1921. (Abb. 10.)

Suspension des Gastrocnemius in Ringerlösung um 9<sup>h</sup> 50'. — 9<sup>h</sup> 55' Einzelöffnungsschlag (R.A.: 8 cm.) (Abb. 10a.) — 9<sup>h</sup> 59' *Natriumcitrat* 1 : 300 in *cal-*

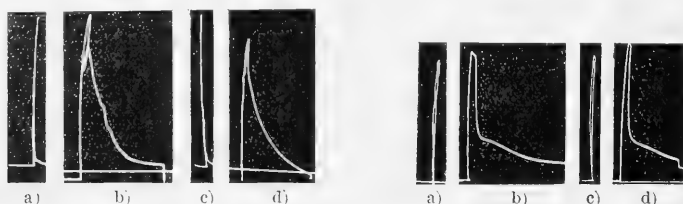


Abb. 9 a—d.

Abb. 10 a—d.

*ciumfreier* Ringerlösung. — 10<sup>h</sup> 14' Einzelöffnungsschlag (Abb. 10b.) — 10<sup>h</sup> 16' *Natriumcitrat* 1 : 150. — 10<sup>h</sup> 40' Einzelöffnungsschlag. (Abb. 10c.) — 10<sup>h</sup> 41' bis 10<sup>h</sup> 46' Rhythmische Reizung des Muskels (Fr.: 120). — 10<sup>h</sup> 47' Einzelöffnungsschlag. (Abb. 10d.)

Wie ersichtlich, verhalten sich Natriumoxalat und Natriumcitrat in ihren Wirkungen vollkommen ähnlich, nur liegen die wirksamen Konzentrationen bei dem Citrat höher als beim Oxalat. Beide Substanzen verursachen in *geringen* Konzentrationen *Doppelzuckungen*, die am meisten Ähnlichkeit mit dem *zweigipfligen* Typus der Veratrinzuckung aufweisen. Reizen wir den Muskel in Abständen von einigen Minuten, so hält sich dieser funktionelle Zustand auch stundenlang unverändert, um schließlich wieder — kurz vor dem definitiven Erlöschen der Muskelerregbarkeit — langsam zu verschwinden. Auch gegenüber rhythmischer Reizung und K-Zusatz verhält sich der mit Oxalat vergiftete Muskel ebenso wie der Veratrilmuskel, das heißt es kommt zu einem Verschwinden der Doppelzuckungen. Sehr interessant ist es ferner, daß eine Erhöhung der Oxalat- oder Citratkon-

<sup>1)</sup> Wie ich bei der Durchsicht der Literatur feststellen konnte, wurde diese Tatsache für Na-Oxalat bereits von *Botazzi* (Arch. f. Physiol. 1901) beobachtet. Von *Verzár* und *Felner*, die mit Esculenten arbeiteten, wurde sie hingegen vermißt. (Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 158, 421. 1914.)

zentration auf das Doppelte oder Mehrfache ebenfalls die Fähigkeit des Muskels aufhebt, Doppelzuckungen auszuführen. Auch hierin zeigen diese Wirkungen eine Analogie zu der des Veratrins. Ermüden wir jedoch einen Muskel, bei welchem die Doppelzuckungen durch Überschuß an Oxalat oder Citrat zum Verschwinden gebracht worden sind, so sehen wir, ähnlich wie bei der Kombination  $\text{Ca} + \text{Veratrin}$ , die Doppelzuckungen wieder auftreten. Hohe Oxalat- und Citratkonzentrationen haben im übrigen die Fähigkeit, nicht nur die Doppelzuckungen zu beseitigen, die sie selbst in geringen Konzentrationen hervorgerufen haben, sondern sie heben auch eigentliche Veratrinzuckungen prompt auf.

Es ergibt sich daher die Frage, wie diese Beobachtungen sich mit unseren Anschauungen in Einklang bringen lassen bzw. aus denselben abgeleitet werden können.

Nach unserer Theorie sind für das Zustandekommen von Doppelzuckungen zwei Bedingungen erforderlich: eine *Quellungsbegünstigung* im Sarkoplasma und eine *Abdichtung* der Grenzschichten. Bestehen also unsere Anschauungen zu Recht, so muß es auch unter der Einwirkung von Citraten und Oxalaten zum Auftreten dieser beiden Veränderungen kommen. Es ist daher notwendig, daß wir uns eine Vorstellung darüber machen, welche physikochemische Zustandsänderungen wir zu gewärtigen haben, wenn Oxalat- oder Citrationen mit einem System von den strukturellen Eigenschaften der Muskelfaser in Berührung kommen.

Wir müssen uns nun m. E. die sich hierbei abspielenden Vorgänge etwa folgendermaßen denken. Die Oxalat- bzw. Citrationen fallen nach ihrem Eindringen in das Sarkoplasma das dort vorhandene Calcium. Da nun aber die physiologische Wirkung des Calciums auf die Muskelsubstanz unfraglich eine *entquellende* ist, so muß seine *Beseitigung* eine *Quellungsbegünstigung* zur Folge haben. Andererseits haben aber auch die Anionen *Citrat* und *Oxalat*, entsprechend ihrer Stellung in der *lyotropen Reihe*, eine *entquellende* Wirkung, die sich überall dort geltend machen muß, wo nach Ausfällen des Calciums, dieselben in freiem Zustande in der Lösung in *Überschuß* verbleiben. Dies wird aber zunächst naturgemäß nur an den äußeren Grenzschichten des Muskels der Fall sein können, denn die ins Innere des Muskels eindringenden Citrat- bzw. Oxalationen werden durch die dort vorhandenen Ca-Ionen abgefangen und gefällt. Zu einer entquellenden Wirkung kann es bei geringen Oxalat- und Citratmengen nur an den Grenzschichten kommen, während im Inneren des Sarkoplasmas infolge Ausfallen der Calciumwirkung eine *Quellungsbegünstigung* eintritt. Wir sehen also, daß infolge der zweifachen Wirkung der *Oxalat-* bzw. *Citrationen* die beiden Bedingungen, die wir als notwendig für das

Zustandekommen einer Doppelzuckung hingestellt haben, nämlich eine *Dichtung* der *Grenzschichten* einerseits und eine *Quellungsbegünstigung* im *Sarkoplasma* andererseits, tatsächlich erfüllt sind.

Bei *höherer* Konzentration und *längerer* Einwirkungsdauer erlangt hingegen das Oxalat- bzw. das Citration auch im Inneren des Sarkoplasmas eine überschüssige Konzentration, was sofort der Fall sein wird, wenn die gesamte Menge des vorhandenen Calciums ausgefällt ist. Jetzt aber bewirken die Anionen, ähnlich wie bereits früher an den Grenzschichten, auch im Sarkoplasma eine Entquellung. Als Folge hiervon sehen wir bei höheren Oxalat- bzw. Citratkonzentrationen die anfänglichen Doppelzuckungen wieder verschwinden. Wird jetzt der Muskel rhythmisch gereizt, so wird durch die gebildeten Säuren die Quellbarkeit des Sarkoplasmas wieder erhöht und die Doppelzuckungen kommen abermals zum Vorschein.

Die folgerichtige Durchführung unserer Anschauungen über die Bedeutung von Quellungs- und Entquellungsvorgängen für das Zustandekommen der Doppelzuckung ermöglicht es also, auch für die vielgestaltigen Wirkungen von Citrat- und Oxalationen eine ungezwungene Erklärung zu geben. Wir haben zu diesem Zwecke *zwei Eigenschaften* dieser Ionen heranziehen müssen, nämlich ihre *calcium-fällende* Wirkung einerseits und ihren *entquellenden* Einfluß auf Kolloide andererseits. Nun kennen wir eine Anzahl Substanzen, welche diese beiden Eigenschaften *getrennt* aufweisen, d. h. *Calcium fällen ohne entquellend* zu wirken oder Kolloide zur *Entquellung* bringen *ohne Calcium zu fällen*. Als Vertreter dieser beiden Gruppen können z. B. einerseits *Fluoride*, andererseits *Tartrate* gelten. Es fragte sich daher, wie diese Ionen allein und kombiniert den Verlauf der Muskelzuckung beeinflussen.

*Versuch 72.* Temp. ♀. 14. XI. 1921. (Abb. 11.)

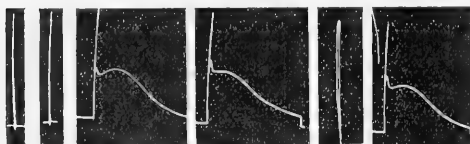
Suspension des Gastrocnemius in Ringerlösung um 10<sup>h</sup> 35'. — 10<sup>h</sup> 40' Einzelöffnungsschlag (R. A.: 8 cm). (Abb. 11 a.) — 10<sup>h</sup> 41' Natriumfluorid 1 : 2000

in Ca-freier Ringerlösung. — 11<sup>h</sup> 02' Einzelöffnungsschlag.

(Abb. 11 b.) — 11<sup>h</sup> 09' NaF 1 : 2000 + Natriumtartrat 1 : 1000.

— 11<sup>h</sup> 09' Einzelöffnungsschlag. (Abb. 11 c.) — 11<sup>h</sup> 10' Natriumfluorid 1 : 500 + Natriumtartrat 1 : 1000.

— 11<sup>h</sup> 28' Einzelöffnungsschlag. (Abbildung 11 d.) — 11<sup>h</sup> 30' Natrium-



a) b) c) d) e) f)

Abb. 11 a—f.

fluorid 1 : 500 + Natriumtartrat 1 : 500. — 11<sup>h</sup> 42' Einzelöffnungsschlag. (Abb. 11 e.) — 11<sup>h</sup> 43'—11<sup>h</sup> 45' Rhythmische Reizung (Fr.: 120). — 11<sup>h</sup> 46' Einzelöffnungsschlag (Abb. 11 b.)

*Versuch 71.* Temp. ♂. 11. XI. 1921.

Suspension des Gastrocnemius in Ringerlösung um 11<sup>h</sup> 15'. — 11<sup>h</sup> 18' Einzelöffnungsschlag (R. A.: 6 cm). — 11<sup>h</sup> 19' Natriumtartrat 1 : 1000 in Ca-freier Ringer-

lösung. — 11<sup>h</sup> 34' Einzelöffnungsschlag (Zuckung unverändert.) — 11<sup>h</sup> 38' Natriumtartrat 1 : 1000 + Natriumfluorid 1 : 2000. — 12<sup>h</sup> 44' Einzelöffnungsschlag. (Zuckung unverändert.)

Diese Versuche zeigen vor allem — im Einklang mit unseren Erwartungen —, daß weder das Natriumfluorid (Abb. 11b), noch das Natriumtartrat für sich Doppelzuckungen verursachen. Dagegen treten bereits nach kurzer Zeit Doppelzuckungen auf, wenn man den Muskel zuerst mit NaF und dann mit Na-Tartrat behandelt (Abb. 11c). Außer der Kombination kommt es aber hierbei ganz wesentlich auch auf die *Reihenfolge* an, in welcher die beiden Substanzen dem Muskel hinzugefügt werden, indem, wie dies aus Versuch 71 hervorgeht, die Doppelzuckungen ausbleiben, wenn der Muskel zuerst mit dem Tartrat und erst nachträglich mit dem Fluorid in Berührung kommt. Auch bei richtig gewählter Reihenfolge ist jedoch die Zeit, während welcher der Muskel Doppelzuckungen auszuführen imstande ist, im allgemeinen nicht lang, und zwar um so *kürzer*, je *höher* die verwendete *Tartratkonzentration* war. Es kann unter Umständen die Doppelzuckung so schnell verschwinden, daß man dieselbe — namentlich bei nicht allzu häufigen Reizen — evtl. überhaupt nicht zu Gesicht bekommen kann. Durch Hinzufügung von überschüssigem Tartrat kann sie jederzeit prompt beseitigt werden (Abb. 11e). Wird ein solcher Muskel, der infolge kombinierter Fluorid- und Tartratwirkung vorübergehend die Fähigkeit besaß, Doppelzuckungen auszuführen, diese aber dann infolge eines Überschusses an Tartrat wieder verloren hat, eine Zeitlang *rhythmisch* gereizt, so treten die Doppelzuckungen wieder auf (Abb. 11f). Die Menge des verwendeten Fluorids ist, — soweit sie überhaupt zur Wirkung ausreicht — ohne Belang (Abb. 11d).

All diese Erscheinungen lassen sich nun auf Grund unserer Theorie ungezwungen auf folgende Weise erklären. Vergiften wir einen Muskel mit Natriumfluorid und Natriumtartrat, und zwar in dieser Reihenfolge, so haben wir nach unseren früheren Auseinandersetzungen folgende Vorgänge zu gewärtigen. Die F-Ionen dringen in das Sarkoplasma ein und fällen das hier vorhandene Calcium. Ihre Wirkung wird daher eine *quellungsbegünstigende* sein. Das nachfolgende Tartrat wirkt zunächst nur auf die *Grenzschichten* und bringt diese zum *Entquellen*. Hierdurch sind aber die beiden Bedingungen, die nach unseren Anschauungen für das Auftreten von *Doppelzuckungen* erforderlich sind, gegeben. Im Moment aber, wo das *Tartrat* in genügender Menge auch in das *Innere* des Sarkoplasmas eingedrungen ist und hier die Oberhand erlangt, kommt es auch hier zu einer *Entquellung* und die *Doppelzuckungen verschwinden*. Durch Reizung wird die Quellbarkeit des Sarkoplasmas wieder erhöht und die Doppelzuckungen treten wieder auf. Im wesentlichen läßt sich also durch die *Kombination* von *calcium-*

fällenden Agentien mit solchen, die eine *entquellende* Wirkung haben, dasselbe erreichen, wie durch Substanzen, die diese *beiden Eigenschaften* in sich vereinigen.

Auch die früher hervorgehobene Bedeutung der *Reihenfolge*, in welcher das Fluorid und das Tartrat dem Muskel zugefügt werden, läßt sich ohne Schwierigkeit erklären, wenn wir folgendes bedenken. Kommt der Muskel mit dem Tartrat erst dann in Berührung, wenn das Fluorid bereits ausreichende Zeit hindurch seine Wirkung entfalten konnte, so spielen sich die Vorgänge so ab, wie sie oben beschrieben wurden, und es kommt zur Ausbildung typischer Doppelzuckungen. Ganz anders verhält sich die Sache jedoch dann, wenn das Fluorid erst nach dem Tartrat zur Lösung zugesetzt wird. In diesem Falle bringt das eindringende Tartrat das Sarkoplasma zur Entquellung, noch bevor das Fluorid vorhanden ist. Wird das letztere nun auch nachgeschickt, so langt das Ausfällen des Calciums offenbar nicht, um dem durch das Tartrat entquollenen Sarkoplasma einen für das Zustandekommen von Doppelzuckungen ausreichenden Quellungs- zustand zu verleihen.

#### Über weitere Ionenpaare, die Doppelzuckungen herbeiführen.

Nachdem im vorigen Abschnitt gezeigt werden konnte, daß durch die gleichzeitige Anwendung calciumfällender Ionen mit solchen, die eine Entquellung von Kolloiden verursachen, ein Zustand des Muskels herbeigeführt werden kann, in dem er Doppelzuckungen ausführt, lag die Frage nahe, ob dieselbe Wirkung nicht auch dann erreicht werden könnte, wenn die erforderliche *Quellungsbegünstigung* im Sarkoplasma anstatt durch die Entfernung von Calcium durch eine Substanz herbeigeführt wird, die eine *direkte quellungsbegünstigende* Wirkung auf Kolloide hat. Unter den zahlreichen, unter diesem Gesichtspunkte untersuchten Ionenkombinationen zeigt die von NaJ mit BaCl<sub>2</sub> die übersichtlichsten Verhältnisse, so daß auf dieselbe etwas näher eingegangen werden soll.

Versuch 124. Temp. ♂. 6. I. 1922. (Abbildung 12.)

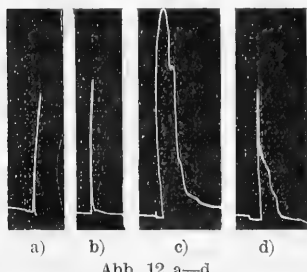


Abb. 12 a—d.

Suspension des Gastrocnemius in Ringerlösung um 4<sup>h</sup> 15'. — 4<sup>h</sup> 20' Einzelöffnungsschlag. (R.A.: 5 em.) (Abb. 12a.) — 4<sup>h</sup> 22' NaJ 1 : 1000 in Ringerlösung. — 4<sup>h</sup> 10' Einzelöffnungsschlag. (Abb. 12b.) — 4<sup>h</sup> 41' NaJ 1 : 1000 + BaCl<sub>2</sub> 1 : 1000. — 5<sup>h</sup> Einzelöffnungsschlag. (Abb. 12c.) — 5<sup>h</sup> 01' NaJ 1 : 1000 + BaCl<sub>2</sub> 1 : 500. — 5<sup>h</sup> 40' Einzelöffnungsschlag. (Abb. 12d.)

Wie ersichtlich, führt auch diese Ionenkombination zum Auftreten von Doppelzuckungen. Die Quellungsbegünstigung im Sarkoplasma



wird in diesem Falle direkt von den Jodidionen bewerkstelligt — entsprechend ihrer Stellung in der *Hofmeisterschen* Ionenreihe. Wenn wir nun gleichzeitig mit dem NaJ auch BaCl<sub>2</sub> hinzufügen, dessen *dichtende* Wirkung auf die *Grenzschichten* bereits aus den oben besprochenen Versuchen hervorgeht, so sind die *beiden Bedingungen* für das Auftreten von Doppelzuckungen erfüllt und die Wirkung bleibt auch diesmal, wie wir gesehen haben, nicht aus. Auch diese Beobachtungen liefern demnach eine Stütze für unsere Theorie von der Bedeutung der beiden Bedingungen, welche für das Auftreten von Doppelzuckungen erforderlich sind. Weitere Bariummengen setzen den Erfolg — infolge der entquellenden Wirkung des eindringenden Bariums auf das Sarkoplasma — wieder herab, obwohl eine völlige Aufhebung der Doppelzuckungen entsprechend der schlechten Eindringfähigkeit der Ba<sup>++</sup>-Ionen auch bei noch so hoher BaCl<sub>2</sub>-Konzentration nicht beobachtet werden konnte.

*Über die verschiedenen Kurvenformen rhythmisch gereizter Muskeln und ihre Beziehungen zu den physikochemischen Grundlagen der inneren Unterstützung.*

Im Laufe obiger Erörterungen wurden bereits zwei Substanzen erwähnt, welche die *innere Unterstützung* des Muskels, wie sie während der rhythmischen Reizung zutage tritt, wesentlich zu *erhöhen* imstande sind. Diese Substanzen waren das Kalium und das *Barium*. In den betreffenden Abschnitten wurde auch der Versuch gemacht, diese Wirkung der beiden Ionen aus ihren physikochemischen Eigentümlichkeiten abzuleiten. Wir kamen hierbei zu dem Ergebnis, daß die fraglichen Wirkungen des Kaliums und des Bariums trotz ihrer äußerlichen Ähnlichkeit ihrem Wesen nach doch vollkommen verschiedener Natur sein müssen und eine genauere Betrachtung der betreffenden Muskelkurven zeigte dann auch gewisse charakteristische Unterschiede in dem Verhalten des mit Kalium und des mit Barium behandelten Muskels. An dieser Stelle wollen wir es nun versuchen diese Unterschiede nochmals, und zwar von allgemeineren Gesichtspunkten aus, ins Auge zu fassen, um auf diese Weise zu einer Theorie der inneren Unterstützung zu gelangen.

Wie wir dies bereits oben erörtert haben, sehen wir in der inneren Unterstützung des Muskels einen Ausdruck seines tonischen Zustandes, ebenso wie in seiner Bereitschaft Doppelzuckungen auszuführen. Nach unseren bisherigen Ausführungen ist aber dieser Zustand des Muskels hauptsächlich von zwei Faktoren abhängig, nämlich einmal von der Quellbarkeit des Sarkoplasmas und zweitens von der Durchlässigkeit seiner Grenzschichten. Es muß demnach a priori die Möglichkeit bestehen, die innere Unterstützung des Muskels auf *zweierlei Weise* zu

beeinflussen: durch Beeinflussung des Quellungszustandes des Sarkoplasmas und durch eine Veränderung der Durchlässigkeit seiner Grenzschichten. Theoretisch genommen muß es auf beiden Wegen möglich sein, ebenso eine Erhöhung wie eine Herabsetzung der inneren Unterstützung des Muskels herbeizuführen. Dies scheint nun tatsächlich auch der Fall zu sein. Daß hohe *Calcium*konzentrationen eine *Entquellung* des Sarkoplasmas und in der Folge eine *Herabsetzung* des Muskeltonus verursachen, wurde schon oben ausführlich besprochen. Daß eine Erschlaffung des Muskels auch durch erhöhte *Permeabilität* der Grenzschichten verursacht werden kann, scheint mir aus noch nicht abgeschlossenen Versuchen mit einzelnen Narkoticis und Novocain hervorzugehen. In diesem Zusammenhange wollen wir uns jedoch auf jene Wirkungen beschränken, die zu einer *Erhöhung* der inneren Unterstützung des Muskels führen.

Diese letzteren müssen nun nach dem eben Gesagten auch in zwei Gruppen geteilt werden. Zu der ersten gehören Einflüsse, die mit einer *erhöhten Quellbarkeit* des Sarkoplasmas einhergehen, während bei der zweiten Gruppe eine *Abdichtung* der *Grenzschichten* vorliegt. Als Beispiele für diese beiden Möglichkeiten haben wir bereits die Wirkung des *Kaliums* und die des *Bariums* kennengelernt. Es wurde bereits auch auf den charakteristischen Unterschied hingewiesen, der zwischen den Kurven der mit beiden Substanzen behandelten Muskeln besteht. Unter der Einwirkung des *Kaliums* tritt die Erhöhung der Fußpunktlinie *allmählich* auf und nimmt dann im Laufe der weiteren Reizung an Deutlichkeit immer mehr zu (Abb. 13 b). Beim *Barium* sehen wir hingegen, daß der *Höhepunkt* der Contractur *sofort* erreicht wird und die Fußpunktlinie im Laufe der *weiteren* Reizung sich wieder langsam der *Abszisse* nähert (Abb. 13 d). Diese Verschiedenheit in der Form der Reizungskurve unter der Einwirkung von Kalium einerseits und Barium andererseits steht nun in voller Übereinstimmung mit unseren Anschauungen. Bei dem *Kalium*, wo die Contractur durch eine *erhöhte Quellung* des Sarkoplasmas bedingt ist, nimmt dieselbe mit der Anhäufung von Säuren im Sarkoplasma während der Reizung an Intensität zu, beim Barium hingegen, wo die Contractur durch eine *Entquellung* der *Grenzschichten* und eine *Verhinderung* des *Säureabflusses* hervorgerufen wird, tritt die Contractur im Laufe der Reizung immer mehr zurück. Durch die angehäuften Säuren kommt es nach unseren Anschauungen in diesem Falle zu einer *Aufquellung* und *Auflockerung* der *Grenzschichten* und hierdurch zu einer *Behebung* der Contractur.

Um unsere Theorie über die verschiedene Wirkungsweise der contracturbegünstigenden Substanzen eine breitere experimentelle Unterlage zu verschaffen, wurde noch eine weitere Reihe von Ionen mit wohldefinierter Wirkung auf Kolloide in Hinblick auf ihren Einfluß

auf die innere Unterstützung des Muskels untersucht. Da der Gegensatz zwischen Quellungsbegünstigung und Entquellung in der Anionenreihe wesentlich schärfer ist, als unter den Kationen, kamen zu diesem Zwecke hauptsächlich die Salze mit verschiedenen Anionen in Betracht. Die deutlichsten Wirkungen erhielt ich auch mit NaJ einerseits,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  andererseits. Die Ionen  $\text{J}'$  und  $\text{SO}'_4$  zeigen in ihrem kolloidchemischen Verhalten aufs deutlichste die charakteristischen Eigenschaften der beiden Enden der Hofmeisterschen Reihe. In Abb. 13 ist der Einfluß von NaJ und  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  auf die innere Unterstützung des Muskels ersichtlich. Die Versuche wurden auf dieselbe Weise ausgeführt, wie früher mit KCl und  $\text{BaCl}_2$ . Und auch der Effekt ist ein im wesentlichen vollkommen gleicher: NaJ (13c) wirkt genau wie KCl,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (13e) wie  $\text{BaCl}_2$ . Die Erklärung für diese Wirkungen dürfte demnach ebenfalls die gleiche sein, wie wir sie früher für Kalium bzw. Barium gegeben haben: das NaJ wirkt *quellungsbegünstigend* auf das Sarkoplasma, das  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  entquellend und *dichtend* auf die Grenzschichten. Dieser Auffassung entspricht nicht nur das allgemeine kolloidchemische Verhalten der beiden Ionen, sondern auch die Form der entsprechenden Muskelkurven: stetiger Anstieg der Contractur unter der Einwirkung von NaJ und steiler Anstieg mit nachfolgendem, allmählichem Abfall bei  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

#### Zusammenfassung.

1. Geringfügige Erhöhung des Kaliumgehaltes der Ringerlösung erhöht die innere Unterstützung isolierter Froschmuskeln bei rhythmischer Reizung. Erhöhung des Calciumgehaltes oder Weglassen des Kaliums hat einen gegenteiligen Effekt. Hohe Konzentrationen an Calcium verhindern auch den Eintritt der Totenstarre.

2. Die Veratrinzuckung wird durch kleine Mengen von  $\text{CaCl}_2$  begünstigt, durch KCl gehemmt. Große Mengen von  $\text{CaCl}_2$  heben die Vera-

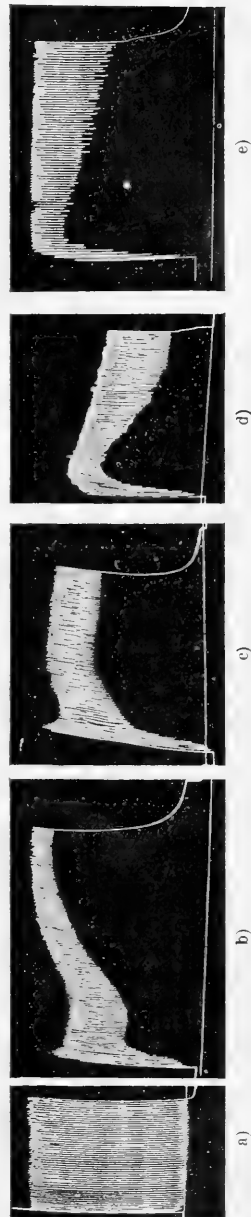


Abb. 13.

trinzuckung ebenfalls auf, doch ist diese Wirkung von der des Kaliums durchaus verschieden. Ist die Veratrinzuckung durch  $\text{CaCl}_2$  aufgehoben worden, so läßt sie sich durch rhythmische Reizung des Muskels wieder zum Vorschein bringen. Beim Kalium ist dies nicht der Fall.

3.  $\text{BaCl}_2$  erhöht die innere Unterstützung des Muskels bis auf ganz hohe Konzentrationen, bei denen auch hier ein gegenteiliger Effekt eintritt. Die Veratrinzuckung wird durch  $\text{BaCl}_2$  begünstigt. Im allgemeinen wirkt Barium auch in höheren Konzentrationen so, wie Calcium nur in geringen. Die Ursache hierfür wird in der geringen Durchlässigkeit der Muskelgrenzschichten für Bariumionen gesucht.

4. Calciumfällende Ionen, die gleichzeitig eine entquellende Wirkung auf Kolloide haben, wie Oxalat und Citrat, führen am isolierten Muskel Doppelzuckungen nach Art des Veratrins herbei. In Überschuß hinzugefügt heben dieselben Ionen die Doppelzuckungen wieder auf. Doppelzuckungen kommen auch dann zustande, wenn man calciumfällende Ionen ohne entquellende Wirkung auf Kolloide mit solchen kombiniert, die zwar Calcium nicht fällen, hingegen Kolloide zum Entquellen bringen ( $\text{NaF} + \text{Na-Tartrat}$ ). Die Wirkung tritt jedoch nur dann ein, wenn der Muskel zuerst mit dem calciumfällenden Ion und erst nachher mit dem entquellenden in Berührung kommt. Durch Überschuß dieses letzteren läßt sich auch diese Wirkung rückgängig machen, kommt aber nach rhythmischer Reizung wieder zum Vorschein.

5. Die innere Unterstützung des Muskels, wie sie bei der rhythmischen Reizung zutage tritt, wird durch eine Anzahl Substanzen begünstigt, zu denen sowohl solche mit quellungsbegünstigender Wirkung, wie solche mit entquellender gehören. Die Muskelkurven weisen jedoch in den beiden Fällen äußerst charakteristische Unterschiede auf, während sie innerhalb der einzelnen Gruppen stets dasselbe Bild zeigen.

6. Die beobachteten Tatsachen lassen sich alle einheitlich damit erklären, daß sowohl für das Auftreten von Doppelzuckungen, wie für die innere Unterstützung des Muskels der *Quellungszustand* des *Sarkoplasmas* und die *Durchlässigkeit* der *Grenzschichten* von maßgebender Bedeutung sind. Die gemachten Beobachtungen stützen nicht nur diese Anschauung, sondern sie konnten auf Grund dieser Arbeitshypothese zum größten Teil vorausgesagt werden.

# Über länger anhaltende (tonische) Beeinflussungen des Kontraktionszustandes der Skelettmuskulatur des Menschen.

Von  
cand. med. **Béla Mittelmann.**

(Aus dem Physiologischen Institut der deutschen Universität Prag.)

(Eingegangen am 4. Juli 1922.)

Unsere Problemstellung ist folgende: Es sei in irgendeiner Muskelgruppe des Körpers ein Kontraktionszustand gegeben; es ist nun die Frage, durch welche Einwirkungen dieser Zustand länger dauernd beeinflußt, d. h. gefördert oder gehemmt werden kann. Mit der Bezeichnung „länger anhaltend“ soll gesagt werden, daß kurze, schnell vorübergehende, reflektorische Kontraktionen hier nicht berücksichtigt oder höchstens als Begleiterscheinungen vermerkt werden. (Die Einwirkungen müssen nicht unter allen Umständen nachweisbar sein). Es sei betont, daß wir von den gefundenen Erscheinungen hier nur das Prinzipielle mit einigen Beispielen aus unserem Beobachtungsmaterial festlegen wollen. Das Wichtigste aus der einschlägigen Literatur, wird an der entsprechenden Stelle verzeichnet werden.

## *Methodik.*

Unsere Versuche sind mit folgender Methodik angestellt worden:

Wir wollen die Einflüsse auf die Muskulatur irgendeines Körperteiles untersuchen, z. B. auf die des Halses, des Rumpfes oder eines der Gelenke der Extremitäten. Die Versuchsperson wird aufgefordert (bei geschlossenen Augen), dem zu untersuchenden Gliede eine gewisse symmetrische Stellung zu geben und das Glied gleichmäßig zu halten. Den Kopf ließ ich meistens symmetrisch in leicht nach vorn geneigter Stellung halten, den Rumpf ebenso. Die Einflüsse auf die Muskulatur der Extremitäten kann man entweder für jede einzelne allein prüfen — dann läßt man z. B. den linken Arm vor sich hin halten — oder man prüft gleichzeitig bezüglich zweier symmetrischer Gelenke, indem man z. B. beide Arme in gleicher Höhe, in gleicher Adduktion gleichzeitig vor sich hin halten läßt. Nun wird der auf seine Wirkung zu untersuchende Reiz gesetzt und beobachtet, was für eine Änderung in der Lage des zu untersuchenden Gliedes auftritt.

Verfahren wir in der geschilderten Weise, so lassen sich nur durch einige wenige Reizweisen Änderungen in der symmetrischen Stellung des Gliedes hervorrufen. Andere Reize wirken nur bei wenigen, wahrscheinlich empfindlicheren Individuen. Deswegen ist zum Nachweise feinerer Reaktionen außer der symmetrischen Lage des untersuchten Körperteiles noch etwas notwendig, nämlich die Art und

den Grad, wie die untersuchten Muskeln innerviert werden, genau zu beachten. Die Stellung der Glieder muß sozusagen eine lockere sein; die Versuchsperson wird darauf aufmerksam gemacht, sich nicht zu bestreben, die Anfangslage des untersuchten Gliedes *unbedingt* beizubehalten. Die Lage der Glieder muß immer im Anfang eine symmetrische sein. Wenn später eine asymmetrische, unwillkürliche Bewegung eintritt, soll die Versuchsperson diese nicht verhindern, der Körperteil soll sozusagen sich selbst überlassen werden. Die Glieder in der geschilderten Weise zu halten erfordert aber meist eine Schulung, so daß die Reaktionen meistens erst nach einigen Vorversuchen gelingen. Auch ist die größte Vorsicht geboten, um Autosuggestionen der Versuchsperson zu vermeiden. Deswegen haben wir die Anforderung gestellt: eine Reaktion wird dann erst als einwandfrei betrachtet, wenn sie bei mindestens zwei Versuchspersonen, die vom Ausfall des Versuches bei einander nichts wissen, wiederholt, unter den gleichen Umständen in gleicher Weise auftritt. Die hier anzuführenden Reaktionen haben dieser Forderung entsprochen. Damit sei aber nicht gesagt, daß der gleiche Ausfall der einzelnen Reaktionen sogar unter den gleichen äußeren Umständen tatsächlich immer eintreffen müsse. Es scheint sogar unter scheinbar gleichen Umständen eine völlig entgegengesetzte Reaktion möglich zu sein. Die obige Anforderung ist aber zur Feststellung der hier angeführten Erscheinungen notwendig, solange wir nicht alle Umstände kennen, die auf den Ausfall der Reaktionen ausschlaggebend sein können. Die unten angeführten Versuche sind an mir und Herrn *H. Goldmann*, Assistenten am Institut, ohne Kenntnis des Ausfalles der Reaktionen beim anderen, ausgeführt worden. Zuerst wurde immer ein Kontrollversuch eingeschaltet. Es wird dabei dem zu untersuchenden Körperteile zunächst eine symmetrische, lockere Stellung gegeben und längere Zeit zugewartet, ob spontan eine asymmetrische Stellungsänderung erfolgt. Tritt keine solche ein, sondern binnen  $\frac{1}{2}$ —3 Min. bloß eine längere symmetrische Änderung entsprechend der Schwere, so wird die Ausgangsstellung wieder eingenommen und nun der Versuch durchgeführt.

Den Ausgangspunkt für unsere Untersuchungen bildete in erster Linie die von *E. Wodak* und *M. H. Fischer* angegebene labyrinthogene Arm-Tonus-Reaktion; unsere Methode lehnt sich an die von den beiden Autoren beschriebene weitgehend an. Die beiden Autoren haben nachgewiesen, daß, wenn man den Vestibularapparat eines normalen Individuums irgendwie einseitig beeinflußt und nun die Versuchsperson auffordert, bei geschlossenen Augen beide Arme horizontal vor sich hin zu halten, gewissen Gesetzen entsprechend der eine Arm sinken, der andere steigen gelassen wird. Das Phänomen kann bis zu 30 Min. dauern, während welcher Zeit mehrmals ein Wechsel eintritt in der Art, daß der bisher tiefer stehende Arm steigt, der höher stehende sinkt.

Eine andere Vestibularisreaktion ist die ursprüngliche *Bárány*sche Beobachtung. Wenn wir bei einer normalen Versuchsperson den Vestibularapparat einseitig beeinflussen und sie hierauf auffordern, z. B. den rechten Arm gerade auszustrecken und ruhig zu halten, so bemerken wir, daß, während die Versuchsperson glaubt, den Arm ruhig zu halten, dieser kontinuierlich nach der einen Seite abweicht.

Außerdem ist hier noch die sogenannte Fallreaktion zu erwähnen. Wird bei einer normalen Versuchsperson das Labyrinth einseitig

beeinflußt, und nun die Versuchsperson aufgefordert, mit aneinander gelegten inneren Fußrändern aufrecht zu stehen, so hat sie die Neigung, nach einer Seite umzufallen.

Auf Grund dieser Erscheinungen ist selbstverständlich das Labyrinth als eine ausgezeichnete Quelle für Beeinflussungen zu betrachten, die den Kontraktionszustand der Skelettmuskulatur beim normalen Menschen ändern können. Es ergab sich nun die Frage, ob ähnliche Beeinflussungen auch seitens anderer Rezeptoren auslösbar sind. Als solche Rezeptionsquellen wurden aktive Kontraktionen anderer Muskeln bzw. aktive Stellungsänderung bestimmter Gelenke, passive Stellungsänderung solcher, sodann Hautreize, und zwar Tast- und Schmerzreize, endlich psychische Beeinflussung geprüft.

## I. Beeinflussung durch Zustandsänderung anderer Muskelgruppen (Gelenke).

### a) Beeinflussung durch aktive Betätigung von Muskelgruppen.

Als Beispiele für länger anhaltende Beeinflussung einer Muskelgruppe durch aktive Betätigung einer anderen seien folgende Versuche angeführt.

Alle diese Versuche wurden, wie schon erwähnt, bei mir und bei *H. Goldmann* wiederholt durchgeführt; von quantitativen Unterschieden abgesehen, ergab sich immer das gleiche typische Resultat.

1. Die Versuchsperson sitzt auf der Sesselkante, lehnt sich mit dem Rumpf an die Sessellehne, so daß die Scapulagegend mit der Sessellehne in Berührung kommt und die Achse des Rumpfes mit dem Lote einen Winkel von etwa  $4-5^\circ$  bildet. Der Kopf wird gerade, frei gehalten oder nach hinten, z. B. an die Wand, angelehnt, die Beine sind passiv maximal ausgestreckt, so daß nur die Ferse des Fußes am Fußboden ruht.

*Kontrollversuch* von 45 Sekunden Dauer. Die Versuchsperson wird aufgefordert, beide Arme in der schon oben beschriebenen Weise leicht gestreckt, wagerecht vor sich hin zu halten, die Arme gleichmäßig innervierend, sich selbst zu überlassen. So erfolgt allmählich eine symmetrische langsame Bewegung beider Arme (im Schultergelenk) nach unten, vor dem Ankommen in die Ruhelage auch etwas seitlich. Der linke Arm weicht etwas stärker lateralwärts ab. In 45 Sek. sind beide Arme unten angekommen.

Nach 2 Min. Pause:

*Versuch 1.* Beide Arme werden wiederum symmetrisch emporgehoben. Die Versuchsperson wird aufgefordert, danach zu trachten, 10 Sek. lang das *rechte Kniegelenk* zunächst zu überstrecken, dabei aber mit dem Bein im Hüftgelenk nicht nach unten zu drücken, nach 10 Sek. wieder ruhig zu sitzen und die Arme gleichmäßig zu halten.

Nun kann man an den Armen folgendes beobachten. Nach 12 Sek. bewegt sich der linke Arm abwärts und seitlich, der rechte Arm verharrt zunächst in seiner Stellung. Nach 25 Sek. bewegt sich auch der rechte Arm abwärts und seitlich, aber noch viel langsamer als der linke. In 44 Sek. wird der linke Arm ruhig. Der

rechte Arm ist inzwischen subjektiv sehr schwer geworden; man hat sogar die Empfindung eines unangenehmen Muskelschmerzes. Nach 40 Sek., also wenn der linke Arm zu Ruhe kommt, fängt der rechte Arm an, schneller sich nach abwärts und seitlich zu bewegen, bis er nach 1'45" wieder stillsteht. Dieses Spiel kann sich auch noch öfters wiederholen; ich habe es einmal bei mir 15 Min. lang verfolgt, dann hörte es noch immer nicht ganz auf. Wenn ein Arm unten angekommen ist, müssen wiederum beide Arme in die symmetrische Ausgangsstellung gehoben werden. Manchmal dauert dieser Wechsel nur kürzere Zeit, manchmal nur zwei Phasen lang, dann wird die Bewegung beider Arme ebenso, wie im Kontrollversuch.

In ähnlichen Versuchen tritt immer die typische Reaktion auf. Im Anfang steht auf der Seite der Kniestreckung der Arm höher als auf der anderen, dann erfolgt ein Umschlag, so daß nun der Arm auf der entgegengesetzten Seite höher steht. (Vgl. die bei der Arm-Tonus-Reaktion auftretenden charakteristischen Phasen!) Diese zweite Phase ist häufig stärker ausgesprochen als die erste. Die Dauer der Phasen hängt auch von der Dauer der Streckung ab, aber auch bei gleicher Dauer der Streckung können Schwankungen von 1—5 Sekunden auftreten. Oft erfolgt die Reaktion schon auf eine bloß kurz dauernde Kontraktion der Strecker hin.

2. Ruhelage der Versuchsperson wie oben, nur daß der Kopf passiv nach vorne hängt, indem die Ebene der Mundspalte mit der Horizontalen einen Winkel von  $50^\circ$  bildet.

*Kontrollversuch* von 1 Min. Dauer. Die Versuchsperson wird aufgefordert, den Kopf in die Stellung einer leichten Vorwärtsbewegung zu bringen, und ihn dann gleichmäßig innervierend sich selbst zu überlassen. Meistens erfolgt eine langsame Bewegung des Kopfes nach vorn.

*Versuch 2.* Nach 2 Min. Pause wird der Kopf wieder gehoben. Die Versuchsperson wird aufgefordert, danach zu trachten, 5 Sek. lang das rechte Kniegelenk zu überstrecken. Am Kopf kann man nach 13 Sek. eine Neigung nach der rechten Schulter beobachten, manchmal eine gleichzeitige Beugung nach rückwärts. Manchmal sieht man objektiv keine Bewegung, die Versuchsperson gibt aber an, die Empfindung eines Zuges nach der rechten Schulter zu verspüren. Eindeutig ist bei dieser Reaktion nur die erste Phase, da später infolge der Bewegung des Kopfes Einflüsse vom Labyrinth her sich geltend machen können.

3. Die Versuchsperson sitzt in der Ruhelage mit freiem, gerade gehaltenem Rumpf auf dem Sessel, wobei die Oberschenkel bis 5 cm oberhalb des Kniegelenkes auf der Sesselpatte ruhen.

*Kontrollversuch* von 1' 40" Dauer. Die Versuchsperson wird aufgefordert, beide Knie zu strecken, beide Unterschenkel gleich hoch zu heben und sie dann gleichmäßig innervierend sich selbst zu überlassen. Bei Versuchsperson B. M. wird in dem hier angeführten Versuch der linke Fuß etwas höher gehoben, dann bewegen sich beide langsam nach abwärts, wobei die Höhendifferenz ausgeglichen wird, beide Unterschenkel sinken gleichmäßig, schließlich kommt der linke Fuß etwas früher am Boden an.

*Versuch 3.* Nach 5 Min. Pause wird die Versuchsperson aufgefordert, beide Unterschenkel gleich hoch zu heben, dann mit dem Rumpf langsam eine Rechtsdrehung auszuführen. Man kann binnen 15 Sek. schon deutlich beobachten, daß der linke Unterschenkel langsam sich nach abwärts bewegt, der rechte oft etwas steigt. Später erfolgt auch hier ein Umschlag, wie dies bei Versuch 1 geschildert wurde, mit ähnlichen subjektiven Erscheinungen. Die zeitlichen Verhältnisse



variieren, je nachdem, ob die Rumpfdrehung aufrecht erhalten oder passiv oder aktiv rückgängig gemacht wird.

Es sei hier bemerkt, daß immer, wenn wir die Wirkung einer Bewegung des Rumpfes oder des Kopfes untersuchen, diese Bewegung langsam, mit einer minimalen Winkelbeschleunigung ausgeführt werden muß; auch darf die Lage des Kopfes gegen die Wagrechte sich überhaupt nicht oder höchstens minimal ändern, da man sonst Einflüsse vom Labyrinth her bekommt. Die Wirkung der Kopf- und Rumpfbewegungen läßt sich meistens auch dann nachweisen, wenn das untersuchte Glied nicht so „locker“ und „sich selbst überlassen“ gehalten wird, wie wir es oben geschildert haben. Dann erfolgt oft z. B. an den Armen an Stelle des spontanen Beharrens oder langsameren Sinkens eine Hebung.

Wir wollen nochmals betonen, daß wir nur Beobachtungen angeführt haben, aber keine Regel ableiten wollen.

Auf Grund dieser Versuche können wir also aussagen, daß durch aktive Betätigung anderer Muskelgruppen eine Muskelgruppe beeinflusst werden kann. Ja, es scheint aus unseren Versuchen hervorzugehen, daß im Falle aktiver Betätigung irgendeiner Muskelgruppe alle anderen Muskelgruppen langdauernd beeinflusst werden können.

#### *b) Beeinflussung durch passive Lagerung anderer Körperteile.*

4. Als Beispiel für diese Art der Beeinflussung sei folgender Versuch angeführt:

Die Versuchsperson liegt auf dem Rücken auf der Tischplatte. Die Stellen, wo ein starker Druck der Tischplatte zu spüren ist, werden unterpolstert. Der Kopf ruht mit dem Hinterhaupt auf einem gepolsterten Rahmen. Nach 5 Minuten erfolgt zunächst ein

*Kontrollversuch.* Die Versuchsperson wird aufgefordert, beide Arme symmetrisch zu heben bis zur Höhe, wo die Arme mit dem Lote einen Winkel von 25° einschließen (es wurde die Lotrechte bestimmt und der Winkel an einem Transporteur abgelesen). Es erfolgt eine langsame Bewegung beider Arme nach unten und schwach lateralwärts, mit labiler Symmetrie.

*Versuch 4.* Nach 2 Min. Pause wird der Kopf der Versuchsperson ohne Änderung seiner Lage auf dem Rahmen und gegen die Wagrechte passiv nach der linken Schulter gebeugt und 1 Min. zugewartet. Schon während des ruhigen Liegens gibt die Versuchsperson an, hauptsächlich den linken Arm als schwerer zu empfinden. Nach 1 Min. wird die Versuchsperson aufgefordert, beide Arme symmetrisch zu heben.

Der linke Arm wird meistens etwas tiefer und mehr abduziert gehalten als der rechte. 8 Sek. nach der Hebung kann man beobachten, daß der linke Arm sich nach unten und lateralwärts bewegt; er kommt in 30'' an der Tischplatte an. Der rechte Arm hat sich inzwischen kaum etwas bewegt, etwa 34 Sek. nach der Hebung fängt er auch an, sich nach unten und lateralwärts zu bewegen, und kommt schließlich 2' 4'' nach der Hebung auf der Tischplatte an. Dieses Verhalten habe ich einmal wiederholt durch 1/2 Stunde verfolgen können, dann war es noch immer nachweisbar.

Auch andere Versuche sind durchgeführt worden, welche Einwirkungen analoger Art und von anderen Muskelgruppen her dartun, doch begnügen wir uns mit der Anführung dieses einen Beispiels.

Auf Grund dieses Versuches können wir aussagen, daß Muskelgruppen durch passive Lagerung anderer Körperteile sich nachhaltig beeinflussen lassen.

R. Magnus und seine Schüler haben nachgewiesen, daß passive Lagerung des Kopfes beim Tier und in gewissen pathologischen Fällen beim Menschen den Kontraktionszustand der Extremitäten und Rumpfmuskulatur beeinflussen kann, und haben auch die hier geltenden Regeln genau festgestellt<sup>1)</sup>.

## II. Beeinflussung durch Hautreize.

Auch Versuche über den Einfluß von Hautreizen wurden angestellt, wobei nur der Rock abgelegt wurde. An die Reize, die die Kleidung verursacht, scheint man adaptiert zu sein, hingegen läßt sich interessanterweise im unbekleideten Zustand sogar nach längerer Zeit ein ganz normales Verhalten, z. B. der Arme, nicht erreichen. Deshalb wurden auch die unter I. angeführten Versuche bekleidet, nur ohne Rock ausgeführt. Bei den hier zu erwähnenden Versuchen sind wir so verfahren, daß der Unterschenkel der Versuchsperson entblößt wurde, dann wurde gewartet, bis die Arme ein ziemlich normales Verhalten zeigen, und nun wurde der Hautreiz angebracht.

### a) Tastreize.

5. Als Beispiel für den Einfluß von Tastreizen sei folgender Versuch angeführt:

Die Versuchsperson sitzt in der Ruhelage auf dem Sessel, so daß die Oberschenkel bis zu 5 cm oberhalb des Kniegelenkes auf der Sesselplatte ruhen; die Unterschenkel hängen frei herunter. Der Rumpf ist an die Sessellehne gestützt, der Kopf nach hinten an die gepolsterte Wand gelehnt, der Unterschenkel entblößt. Nach einigem Abwarten erfolgt ein

*Kontrollversuch* von 36 Sek. Dauer. Die Versuchsperson wird aufgefordert, beide Arme symmetrisch zu heben. Sie hebt die Arme oft etwas asymmetrisch, z. B. den rechten Arm etwas höher. Beim spontanen Herabsinken wird diese Differenz beibehalten, außerdem bewegt sich der linke Arm etwas mehr lateralwärts.

*Versuch 5.* Nach 2 Min. Pause werden die Arme wieder gehoben. Die Haut der muskelfreien Tibiafläche wird mit einem quer gehaltenen runden Stab 5 mal in der Länge in ca. 10 cm Ausdehnung gestrichen — und zwar kräftig, aber nicht schmerzhaft.

Nach etwa 12 Sek. bewegt sich der rechte Arm nach unten und schwach lateralwärts, in der 16. Sek. auch der linke, wobei aber der rechte seinen Vorsprung beibehält. Beide Arme scheinen sich rascher zu bewegen als im Kontrollversuch. Später kommt es auch in diesem Versuch zu Phasen der Bewegung, die

<sup>1)</sup> M. H. Fischer und E. Wodak fanden auch einen charakteristischen Einfluß der Kopfhaltung auf die Arm-Tonus-Reaktion (laut persönlicher, noch nicht publizierter Mitteilung).

aber nicht so ausgesprochen sind, wie bei den aktiven Muskelversuchen. Manchmal wird die Differenz der Armhöhe allmählich ausgeglichen und nunmehr ist die Bewegung beiderseits symmetrisch.

*b) Schmerzreize.*

6. Ruhelage der Versuchsperson wie bei a). Kontrollversuch wie bei a) von 40'' Dauer.

*Versuch 6.* Beide Arme werden gehoben. Auf der Haut der muskelfreien Tibiafläche wird eine Klemme angebracht, eine Schlauch- oder eine Quetschklemme, die einen starken Schmerz verursacht.

In der 12. Sek. nach dem Anbringen der Klemme bewegt sich der rechte Arm nach unten und schwach lateralwärts, später macht der linke Arm die gleiche Bewegung, holt sogar nach einer Minute den rechten Arm ein und beide bewegen sich symmetrisch stark lateralwärts, weniger abwärts.

Wird die Klemme weiter an der Haut gelassen, so erfolgt oft nach ca. 5—6 Min. eine Adaptation an den Reiz, die Arme bewegen sich fast ebenso wie im Kontrollversuch. Subjektiv ist an der Applikationsstelle der Klemme noch ein deutlicher Schmerz zu spüren.

Nach 5' 20'' werden beide Arme gehoben und die Klemme entfernt. Der rechte Arm bewegt sich schneller abwärts. Nach 6' 35'' werden beide Arme wiederum gehoben, hierauf bewegt sich der linke Arm schneller abwärts, es ist also ein Umschlag erfolgt.

Zu den Hautreizungsversuchen sei noch bemerkt, daß die Höhendifferenzen hier nicht so stark ausgeprägt sind wie bei den aktiven Muskelversuchen; dasselbe gilt von den einzelnen Phasen. Was die subjektiven Empfindungen anbelangt, besteht folgender Unterschied: Bei den aktiven Muskelversuchen spürt man in den gehobenen Armen etwa folgendes, wobei bemerkt sei, daß gelegentlich Verlauf und Art der Empfindung nicht so deutlich hervortreten. In dem Arm, welcher schon längere Zeit spontan festgehalten wird, oder ganz langsam sich bewegt, entsteht immer die Empfindung der Schwere und des Muskelschmerzes und bald danach erfolgt ein rascheres Sinken des betreffenden Armes. In der ersten Phase fehlt meist diese Empfindung. Während des Sinkens läßt diese Empfindung nach, dann wird der Arm wiederum festgehalten, oder sinkt langsamer. Nach längerem Festhalten beginnt das Spiel von neuem. Bei den Hautreizungsversuchen ist oft zu beobachten, daß der Arm, sobald er spontan festgehalten wird, unangenehm schwer erscheint und diese Empfindung besteht weiter während des Festhaltens oder langsameren Sinkens.

Auf Grund dieser Versuche können wir also aussagen, daß beim normalen Menschen der Kontraktionszustand der Muskelgruppen durch Hautreize beeinflusst werden kann.

### III. Beeinflussung durch den psychischen Zustand.

7. Es sei folgende Beobachtung angeführt: Man stellt dieselbe am besten abends an. Die Lampe brennt, die Versuchsperson liegt im

Bett mit offenen Augen, am besten in Seitenlage. Die Versuchsperson wird aufgefordert, sich körperlich wie psychisch vollkommen zu entspannen wie beim Einschlafen, dann den einen Arm zu heben, aber weiter in dem oben geschilderten Zustand zu verharren. Es handelt sich um eine soweit wie möglich isolierte Betätigung einer Muskelgruppe, wobei die Psyche auch soweit wie möglich entspannt ist. Es erfolgt ein langsames Sinken des gehobenen Armes in  $1\frac{1}{2}$ —2'. Es tritt dabei fast gar keine Ermüdung auf. Man schalte eine 4—5 Min. lange Pause ein. Die Versuchsperson hebt nun wiederum den Arm und wird aufgefordert, gleichzeitig die Aufmerksamkeit auf ein bestimmtes Objekt zu konzentrieren, z. B. die Musterelemente der Malerei an der Wand zu beachten und zu zählen, ohne dabei Bewegungen mit dem Auge auszuführen und ohne die Innervation des gehobenen Armes bewußt zu ändern. Nun sieht man, daß der gehobene Arm oft steigt oder zunächst feststeht, dann aber sinkt, jedoch viel langsamer als vorher, und die Ruhelage in  $2\frac{1}{2}$ —3' erreicht. Eine Ermüdung fehlt oder ist gering.

Dieser Versuch scheint zu besagen, daß eine bestehende einfache Kontraktion einer Muskelgruppe durch anderweitige Konzentrierung der Aufmerksamkeit allgemeiner gesagt, durch einen lebhaften psychischen Zustand langdauernd gefördert wird. Ähnliches kann man im gewöhnlichen Leben häufig beobachten, hauptsächlich an Muskelgruppen, die zu ihrer Kontraktion nicht eine besondere Tätigkeit des Bewußtseins brauchen, wie dies z. B. beim Sitzen und Stehen der Fall ist. Das Sitzen und Stehen ist viel sicherer und fester, und die ganze Haltung eine andere in den Fällen, wo die psychische Tätigkeit gesteigert ist.

Steht das alles fest, so werfen sich gewisse Fragen auf. Was für ein Vorgang liegt allen den hier geschilderten Änderungen des Kontraktionszustandes der Muskelgruppen zugrunde, ist dieser Vorgang in den einzelnen Fällen überhaupt identisch; auf was für einem Wege kommen die Änderungen zustande? Wir möchten nur so viel sagen, daß sich auch durch elektrische Reizung der sogenannten „motorischen Punkte“ an anderen Muskeln typische Beeinflussungen hervorrufen lassen, doch waren die Resultate vorläufig noch wechselnd. Ein Weitergehen auf diese Fragen und den behandelten Problemenkreis behalten wir uns vor.

### Zusammenfassung.

Werden einzelne Körperteile aktiv locker, meist symmetrisch gehalten, so lassen sich bei geeigneter Methodik Einwirkungen auf den Kontraktionszustand der hierbei tätigen Muskelgruppen nachweisen durch

#### I. Zustandsänderung anderer Muskelgruppen:

a) Im Falle der aktiven Betätigung beinahe jeder anderen Muskelgruppe,

b) im Falle der passiven Lagerung anderer Körperteile.

II. Durch Hautreize.

a) Tastreize,

b) Schmerzreize.

III. Durch Änderungen des psychischen Zustandes.

Zum Schlusse möchte ich Professor Dr. *A. Tschermak* für seine freundliche Mithilfe meinen innigsten Dank aussprechen.

#### Literaturverzeichnis.

<sup>1)</sup> *Wodak, Dr. E. und Dr. M. H. Fischer*, Eine neue Vestibularisreaktion. (Vorläufige Mitteilung.) Münch. med. Wochenschr. 1922, Jahrg. 69, S. 93. — <sup>2)</sup> *Bárány, B. und K. Wittmack*, Funktionelle Prüfung des Vestibularapparates. Referat. Verhandl. d. deutsch. otolog. Gesellsch. 1911, S. 558. — <sup>3)</sup> *Magnus, R.*, Körperstellung und Labyrinthreflexe beim Affen. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **193**, 396. 1922.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Kiel.)

## Untersuchungen über die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf Eiweißlösungen.

I. Mitteilung.

Von

**Rudolf Mond,**

Assistent am Institut.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Juli 1922).

Es ist seit langem bekannt, daß vor allem die kurzwelligen Strahlen des Spektrums die mannigfaltigsten chemischen Veränderungen zu verursachen imstande sind. Jedoch sind ihre Wirkungen auf den tierischen Organismus, die zuweilen pathologische Zustände, ja sogar den Tod herbeiführen können, in ihrem Wesen noch wenig erforscht und vielfach rätselhaft. Wohl hat man manche Veränderungen des Stoffwechsels nach Belichtung gefunden, wie Vermehrung der Sauerstoffaufnahme und der Kohlensäureausscheidung, Erhöhung des Stickstoffgehaltes des Harns bei starker Belichtung nach Injektion sensibilisierender Farbstoffe [*Pincussen*<sup>1)</sup>], aber der Ausgangspunkt und der Verlauf der sich hierbei abspielenden chemischen Vorgänge ist nicht bekannt. Auch die Ergebnisse der Reagensglasversuche sind nicht sehr umfangreich und beschränken sich im wesentlichen auf die Feststellung einiger wichtiger Tatsachen, z. B., daß die ultravioletten Strahlen Fermente lähmen, Komplement zerstören, Eiweißkörper zum Koagulieren bringen.

Gerade das Studium der Veränderung der Eiweißlösungen durch Bestrahlung scheint einer der nächstliegenden Wege zu sein, um der Erkenntnis der Strahlenwirkung auf den tierischen Organismus näher zu kommen. Bisher liegen hierüber wenige Untersuchungen vor, deren Ergebnisse man kurz dahin zusammenfassen kann, daß Eiweißlösungen nach mehr oder weniger langer Bestrahlungszeit irreversibel geflockt werden [*Chalupecky*<sup>2)</sup>, *Bovie*<sup>3)</sup>, *Schanz*<sup>4)</sup>], daß der Temperaturkoeffizient

<sup>1)</sup> *Pincussen*, *Ergebn. d. Physiol.* **19**. 1921. Dasselbst weitere Literatur.

<sup>2)</sup> *Chalupecky*, *Casop. Lékaun Ceskych.* **64**. 1913, nach *Zentralbl. f. Bioch.* **18**.

<sup>3)</sup> *Bovie*, *Science* **37**, Nr. 970. 1913; **37**, Nr. 949. 1913.

<sup>4)</sup> *Schanz*, *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **164**, 445. 1916; **170**, 646. 1918.

dieser Reaktion klein ist, ein Charakteristikum, das überhaupt der Lichtwirkung eigentümlich ist. *Schanz* hat weiterhin Stabilitätsänderungen in bezug auf die Ammonsulfatfällbarkeit vor allem der Albumine gefunden, und er schließt daraus, daß durch die Lichtwirkung Albumine in Globuline umgewandelt werden könnten, eine Annahme, die übrigens auf Grund seiner Versuche in keiner Weise gerechtfertigt erscheint.

Die Notwendigkeit, dieses bis jetzt noch wenig bekannte Gebiet systematisch zu erschließen, liegt zweifellos vor. Um mir eine gewisse Übersicht zu verschaffen und um gangbare Wege aufzufinden, habe ich die Veränderungen, die an den Eiweißkörpern des Plasmas durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht auftreten, zunächst physikalisch-chemisch in verschiedener Hinsicht untersucht. Die vorliegende erste Mitteilung gibt eine Zusammenstellung der bisherigen Versuchsergebnisse. Sie macht bei dem schwierigen und umfangreichen Gebiet nicht den Anspruch auf völlige Durcharbeitung. Das war bei den vielen neuen Ausblicken, die sich während der Arbeit ergaben, nicht ausführbar. Das vorliegende Material stellt zu einem Teil nur die Vorarbeiten dar, auf Grund deren es jetzt möglich ist, ganz bestimmte Wege einzuschlagen.

Die Arbeit wurde von Prof. *Höber* zunächst mit der Absicht angeregt, den Einfluß der durch die Bestrahlung mit ultraviolettem Licht verursachten Dispersitätsänderungen von Eiweißlösungen auf die Sedimentierung der roten Blutkörperchen zu verfolgen, um damit zur Klärung der theoretischen Grundlagen dieses Vorganges beizutragen. Über die Versuchsergebnisse hierüber, die noch nicht ganz abgeschlossen sind, werde ich später berichten.

*Methodik:* Sämtliche Untersuchungen wurden an Pferdeblut angestellt, das je nachdem durch Einfließenlassen in 2% Ammoniumoxalatlösung oder durch Schlagen ungerinnbar gemacht wurde. Ich bestrahlte Plasma, Serum und die durch Fällung mit Ammonsulfat in üblicher Weise gewonnenen Fraktionen, die wieder in destilliertem Wasser gelöst und verschieden lange Zeit meistens mit Zusatz von Thymol, außer wenn die Oberflächenspannung gemessen wurde, dialysiert wurden. Die Zeit der Dialyse ist in jedem Versuch bezeichnet. Der Prozentgehalt an Eiweiß variiert in den einzelnen Versuchsreihen, hält sich aber im allgemeinen unterhalb der im Blut vorhandenen. Quantitative Bestimmungen führte ich nicht aus, da es in den Versuchen lediglich auf die Unterschiede zwischen bestrahlten und unbestrahlten Proben also auf relative Werte ankommt. Als Lichtquelle diente eine Krommeyerquarzlampe mit Wasserkühlung; die Bestrahlung wurde vorgenommen in Quarzröhrchen von 8 mm innerem Durchmesser, die in 10 cm Abstand vor der Quarzlampe aufgestellt wurden und in regelmäßigen Zeitintervallen gedreht wurden, um die Bestrahlung möglichst gleichmäßig zu gestalten. Die Wärmestrahlen waren durch die Wasserkühlung vollständig ausgeschaltet, so daß bestrahlte und unbestrahlte Proben gleiche Temperatur zeigten. Überhaupt wurde besonders darauf geachtet, daß alle Lösungen sich unter gleichen Bedingungen befanden. Mußte die Bestrahlung über mehrere Tage ausgedehnt werden, so wurden

bestrahlte und unbestrahlte Proben nachts in den Eisschrank gestellt. Die Untersuchung des ganzen Materials fand am Schluß einer Bestrahlungsreihe statt, so daß die durch das einfache Stehenlassen bewirkten Veränderungen der Eiweißlösungen alle Proben gleichmäßig betrafen.

Die Untersuchung erstreckte sich im wesentlichen auf die Bestimmung der Koagulationstemperatur, der Alkohol- und Ammonsulfatfällbarkeit, der Goldzahl, die Messung der Viscosität, der Oberflächenspannung und der H'-Konzentration.

Die Bestimmung der Koagulationstemperatur erfolgte so, daß je 1 ccm der Kontrolle und der bestrahlten Lösung in gleich weiten Reagensgläsern in einem Becherglas auf dem Wasserbad allmählich unter dauerndem Umrühren erwärmt wurde. Ich unterschied zwischen Opaleszenz, Trübung, fein- und grobflockiger Koagulation. Als Alkohol- bzw. Ammonsulfatzahl bezeichne ich die Menge Alkohol oder gesättigte Ammonsulfatlösung, die nötig ist, um in 1 ccm der zu untersuchenden Lösung die erste Trübung zu erzeugen.

Die Herstellung des Goldsols erfolgte nach der von *Zsigmondy* angegebenen Formelmethode mit dem Unterschied, daß statt in Silberkühlern destillierten Wassers in alten Glaskühlern aus Jenenser Glas destilliertes Wasser verwendet wurde. Als Goldzahl bezeichne ich in meinen Versuchen nicht die Gewichtsmenge Eiweiß, sondern das Volum der zu untersuchenden Lösung, das nötig ist, um 10 ccm Goldsol vor dem Farbumschlag durch 3 ccm 10proz. NaCl-Lösung zu schützen. Die Lösungen mußten immer auf das 20—50fache verdünnt werden. Die Werte sind also auch hier lediglich relativ und nur in den einzelnen Versuchsreihen vergleichbar.

Die Viscosität wurde im Thermostaten bei 28° gemessen. Als Werte sind die Ausflußgeschwindigkeiten durch ein Oswaldsches Viscosimeter eingesetzt.

Als Maß für die Oberflächenspannung gilt das Volum von drei Tropfen, bestimmt im Traubeschen Viscostagonometer bei Zimmertemperatur.

Die Messung der H'-Konzentration stellte ich teils mit der Gaskette, teils mit Indikatoren an.

Im Laufe der Untersuchungen wurde die Einführung weiterer Methoden notwendig, deren Ausführung bei den betreffenden Versuchen näher beschrieben wird.

Wenn man *Pferdeplasma* mit ultraviolettem Licht bestrahlt, so tritt nach wenigen Stunden eine mehr und mehr zunehmende Flockung auf. Die Farbe des dunkelgelben Plasmas blaßt allmählich ab, schon bevor sichtbare Trübungen sich zeigen, und es tritt ein eigentümlich brenzlicher Geruch auf. Bestimmt man nun die Koagulationstemperatur, so stößt man auf eigenartige Veränderungen. Fällt in der Kontrolle bei 56° ein dickflockiger Niederschlag aus, so beginnt in den bestrahlten Proben bei etwa derselben Temperatur eine feine Opaleszenz, die sich ganz allmählich bei weiterer Erwärmung bis auf 80° zu stärkerer Trübung steigert. Zu grobflockiger Koagulation kommt es überhaupt nicht mehr. Man könnte nun zunächst annehmen, daß durch die Bestrahlung die labilsten Eiweißkörper ausgeflockt wurden und die Stabilitätserhöhung auf den übriggebliebenen Rest zurückzuführen wäre. Dem ist aber nicht so, da auch dann, wenn noch keine sichtbare Veränderung durch die Bestrahlung eingetreten ist, also sicher nichts



ausgefallen ist, dieselben Veränderungen sich zeigen. Weiterhin ist bemerkenswert, daß dieser Zustand, der schon nach einer Bestrahlungszeit von 2—4 Stunden eintritt, bei weiterer Belichtung stationär bleibt, und die Koagulationstemperaturen sich nicht mehr nach der einen oder anderen Seite verschieben, trotzdem die Strahlungswirkung, wie Viscositäts- und Oberflächenspannungsmessungen usw., auf die ich später eingehe, beweisen, ihren stetigen Fortgang nimmt. Die folgende Versuchsreihe zeigt die Veränderungen der Viscosität, Koagulationstemperatur, Alkohol- und Ammonsulfatzahl. Das schraffierte Feld in der zugehörigen Abb. 1, sowie in den folgenden stellt die Koagulationszone dar, d. h. den Temperaturbereich vom Beginn der Opaleszenz bis zur feinflockigen Koagulation.

I. Plasma.

Bestr.-Dauer Std.	Koag.-Temp.	Ammonsulfat-Zahl	Alkohol-Zahl	Viscosität
0	55°	0,15	0,30	73,6
3	56°	0,15	0,35	74,8
7	57°	0,15	0,45	76,9
14	58°	0,15	0,45	77,6
26	61°	0,15	0,40	80,5

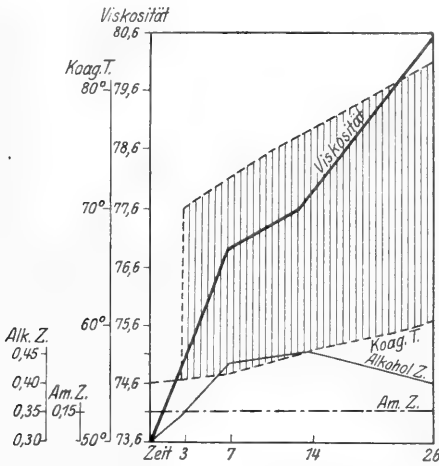


Abb. 1. Plasma.

Wir finden für diese Veränderung ohne weiteres keine Erklärung, denn wir müssen bedenken, daß im Plasma Eiweißkörper verschiedener isoelektrischer Punkte, Dispersitätsgrade und Quellungszustände sich befinden. Es ergibt sich daraus als nächstliegendes, die Stabilitätsänderungen der einzelnen Fraktionen zu untersuchen.

## II. Albumine.

6 Tage gegen destilliertes Wasser dialysiert.

Bestr. Dauer Std.	Koag.-Temp.	Ammonsulfat-Zahl	Alkohol-Zahl	Viscosität
0	70°	1,2	1,15	57,3
3	69°	1,1	1,15	57,6
7	67°	1,1	1,10	58,1
13	65°	1,0	1,00	58,8
21	63°	0,8	0,9	60,3
30	59°	0,75	0,6	61,3

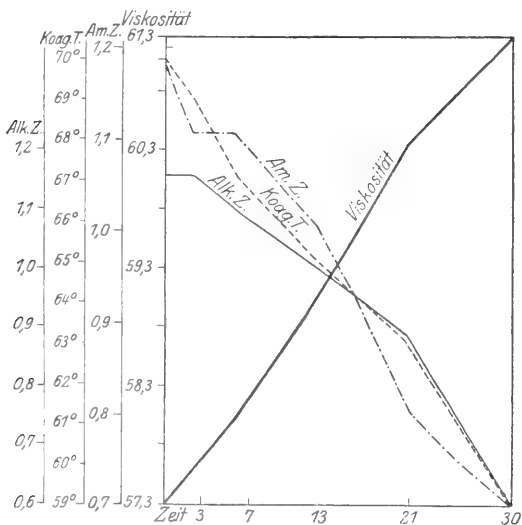


Abb. 2. Albumin.

Alkohol-, Ammonsulfatzahl nehmen stetig mit der Bestrahlungszeit ab, während die Viscosität ansteigt. In den drei am längsten bestrahlten Proben tritt zunehmende Trübung auf. Bei Erwärmen auf 75° erstarren die 7–30 Stunden bestrahlten Lösungen zu einer festen Gallerte.

## III. Globulin + Fibrinogen.

d. h. aus Plasma dargestellte halbgesättigte Ammonsulfatfraktion. Dialyse 3 Tage gegen destilliertes Wasser, 2 Tage gegen 0,9 proz. NaCl-Lösung.

Bestr.-Dauer Std.	Koag.-Temp.	Ammonsulfat-Zahl	Alkohol-Zahl	Viscosität
0	60°	0,25	0,5	63,6
3	63°	0,25	0,5	64,0
6	64°	0,25	0,6	64,8
9	65°	0,30	0,6	65,6
12	67°	0,30	0,6	66,0
15	67°	0,30	0,6	66,7
18	67°	0,30	0,6	67,0
21	67°	0,30	0,6	67,3
24	67°	0,30	0,6	68,4

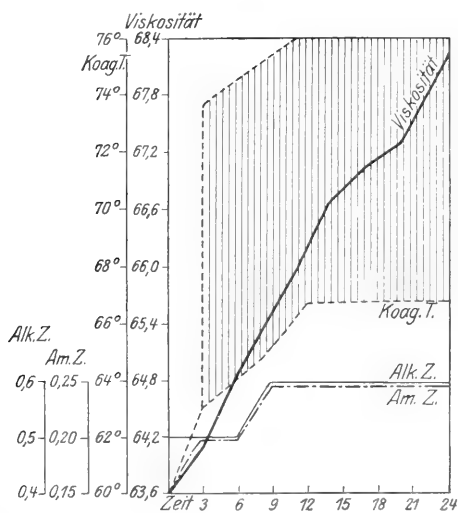


Abb. 3. Globulin + Fibrinogen.

Die Viskosität steigt auch hier und noch stärker wie bei den Albuminen an. Aber die Stabilitätsänderungen verhalten sich ganz anders und ganz ähnlich wie beim Plasma. Während Ammonsulfat- und Alkoholzahl sich nicht wesentlich verschieben, steigt die Koagulations-temperatur sehr bald an und geht in eine breite Zone feiner Trübung über.

IV. Globulin

aus Serum durch Halbsättigung mit Ammonsulfat dargestellt, 3 Tage gegen destilliertes Wasser, 2 Tage gegen 0,9proz. NaCl dialysiert.

Bestr. Dauer Std.	Koag-Temp.	Ammoniumsulfat-Zahl	Alkohol-Zahl	Viscosität
0	69°	0,35	0,5	62,0
3	68°	0,35	0,5	62,5
6	67 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> °	0,35	0,5	63,3
9	67°	0,35	0,5	63,5
12	67 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> °	0,35	0,5	64,3
15	68°	0,35	0,5	64,8
18	69°	0,35	0,5	65,7
21	69°	0,35	0,5	66,5
24	69°	0,35	0,5	67,8

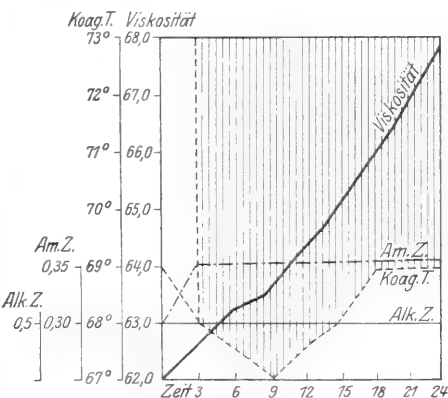


Abb. 4. Globulin.

Es zeigt sich hier ein Unterschied gegen den vorigen Versuch insofern, als der Beginn der Trübung beim Erwärmen zunächst bei Bestrahlung bis zu 9 Stunden bei niedriger Temperatur einsetzt, um dann allmählich wieder anzusteigen. Dieses Verhalten ist sehr bemerkenswert und ich werde später darauf zurückkommen. Offenbar geht aus

den Kurven für das Plasma, wie aus den letzten beiden Versuchen hervor, daß die Stabilitätserhöhung gegen Erwärmung, die sich von vornherein in einem Ansteigen der Koagulationstemperatur bemerkbar macht, wahrscheinlich dem Fibrinogen zuzuschreiben ist, da sich ja das Globulin zunächst anders verhält.

Es ist mir aber in sehr vielen Versuchen nicht gelungen, diesen Unterschied zwischen dem Globulin und dem Fibrinogen quantitativ einwandfrei herauszuarbeiten. Es liegt das einmal an der Schwierigkeit, die Werte gut miteinander vergleichen zu können. Wie ich schon weiter oben anführte, äußert sich die Stabilitätserhöhung vor allem in der Art der Koagulation, in der enormen Verbreiterung der Koagulationszone und es ist da sehr schwer, für den ganz allmählichen Beginn der Opalescenz einen genauen Wert festzusetzen. Zweitens ist das Fibrinogen ein äußerst labiler Eiweißkörper, und es ist daher sehr wohl anzunehmen, daß der kolloidale Zustand einer Fibrinogenlösung von dem a priori im Plasma vorhandenen stark abweicht und daß die durch die Bestrahlung bewirkte Veränderung nicht ohne weiteres mit der im Plasma vor sich gehenden verglichen werden kann. Eine Fibrinogenlösung, die durch Ausfällen mit Ammonsulfat und Wiederauflösen des Niederschlages gewonnen wird, ist schon an sich so instabil, daß sie nach einer Bestrahlungszeit von nur wenigen Stunden schon geflockt wird.

V. *Fibrinogen*, dargestellt durch  $\frac{3}{10}$ -Sättigung des Plasmas mit Ammonsulfat, 3 Tage gegen 0,9% NaCl dialysiert.

Bestr.-Dauer Std.	Koag.-Temp.	Ammonsulfat-Zahl	Alkohol-Zahl	Viscosität
0	59°	0,25	0,45	62,8
3	59°	0,25	0,45	63,7
7	58°	0,25	0,42	64,2
14	56°	0,25	0,40	65,4
25	55°	0,25	0,35	66,4

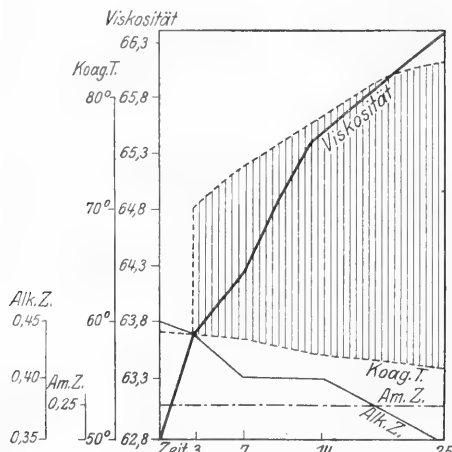


Abb. 5. Fibrinogen.

Erwähnenswert ist noch die Beobachtung, daß bis auf 80° erwärmte bestrahlte Fibrinogenlösungen nicht zu einer Gallerte erstarren im Gegensatz zum Albumin und Globulin.

In den beiden folgenden Versuchen habe ich die Globulinfraction weiter in Eu- und Pseudoglobulin zerlegt. Man sieht, daß die Stabilitätsänderungen der Euglobulinlösung mit der der Gesamtglobulinfraction übereinstimmen, während das Pseudoglobulin in seinem Verhalten gegen die Bestrahlung dem Albumin näher steht.

*VI. Euglobulin.*

Bestr.-Dauer Std.	Koag.-Temp.	Ammonsulfat-Zahl	Alkohol-Zahl	Viscosität
0	70°	0,35	0,7	68,1
3	70°	0,35	0,7	68,6
7	67°	0,35	0,7	69,5
14	67°	0,35	0,7 <td>70,7</td>	70,7
21	70°	0,35	0,7	71,5

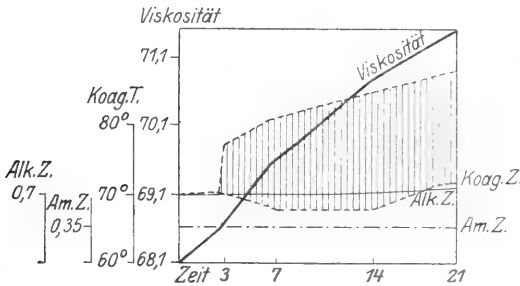


Abb. 6. Euglobulin.

*VII. Pseudoglobulin.*

Bestr.-Dauer Std.	Koag.-Temp.	Ammonsulfat-Zahl	Alkohol-Zahl	Viscosität
0	75°	1,30	0,7	51,9
3	75°	1,25	0,67	52,4
7	74°	1,15	0,65	52,7
14	73°	1,00	0,63	53,1
21	72°	0,90	0,6	53,7

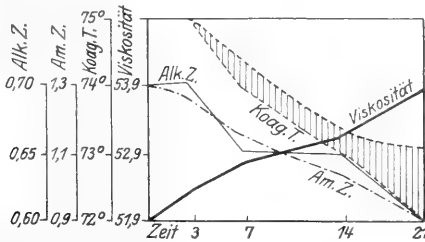


Abb. 7. Pseudoglobulin.

Ich fasse die bisher festgestellten Stabilitätsänderungen in den einzelnen Fraktionen noch einmal kurz zusammen: Allen eigentümlich

ist eine Farbänderung der Lösungen, die während der Bestrahlung eintritt und die sich in einer Abblässung oder einem Gelberwerden des Farbtones bemerkbar macht. Weiterhin ist allen gemeinsam ein eigentümlich brenzlicher Geruch, der an Intensität mit der Bestrahlungszeit wächst. Die Albumine zeigen starke Abnahme der Koagulationstemperatur, der Alkohol- und Ammonsulfatzahl, auf  $80^\circ$  erwärmt, gelatinieren sie, um so ausgesprochener, je länger sie bestrahlt werden. Die Globuline hingegen werden durch die Bestrahlung in ihrer Stabilität ganz anders verändert, was sich vor allem in dem eigentümlichen Verhalten der Koagulationstemperatur bemerkbar macht. Ammonsulfat und Alkoholzahl ändern sich nicht wesentlich. Auch sie gelatinieren bei Erwärmung auf  $80^\circ$ , bis auf das Fibrinogen, das aber sonst im wesentlichen dieselben Veränderungen wie das Globulin durchmacht. Die Viscosität steigt überall an, am wenigsten beim Albumin, am meisten bei der Globulinfraktion.

Wir haben weiterhin Versuche darüber angestellt, ob die Funktion der Eiweißlösungen als Schutzkolloide für das kolloidale Gold durch die Bestrahlung beeinflusst wird. Es zeigten sich da nur beim Albumin geringe Unterschiede im Sinne einer Zunahme der Schutzwirkung. Die Globuline hingegen ließen keine Veränderung erkennen. Beim Fibrinogen trat bei langer Einwirkung der Strahlen eine Verminderung der Schutzwirkung auf, die aber damit erklärt werden kann, daß immer dann auch eine starke Flockung auftrat, wodurch natürlich die Konzentration der Lösung abnahm.

Folgende Versuche mögen die Veränderungen demonstrieren; die Lösungen mußten alle stark verdünnt werden.

<i>Albumin</i>		<i>Albumin in Acetat-Gemischen</i>			
Bestr.-Dauer	Goldzahl	$P_H$	Bestr.-Dauer	Goldzahl	
				unbestr.	bestr.
0	0,06	6,0	6	0,05	0,04
3	0,06	4,7	6	0,05	0,04
7	0,055	3,5	6	0,03	0,02
14	0,03				
25	0,03				

<i>Globuline</i>		<i>Fibrinogen</i>	
Bestr.-Dauer	Goldzahl	Bestr.-Dauer	Goldzahl
0	0,02	0	0,01
3	0,02	3	0,01
7	0,02	7	0,01
14	0,02	14	0,015
25	0,02	25	0,03

Eine Erklärung für die Ursache dieser Veränderungen können wir vorerst nicht geben, da die Theorie der Schutzwirkung noch zu wenig geklärt ist. Überdies sind mir Untersuchungen über die Funktion der Eiweißkörper als Schutzkolloide bei variiertem Wasserstoffzahl nicht

bekannt, die zeigen müßten, ob die Eiweißionen oder der undissoziierte Anteil Träger der Schutzwirkung sind.

Wir haben uns bisher lediglich mit der Feststellung begnügt, daß durch die Bestrahlung von Eiweißkörpern des Pferdeplasmas Veränderungen physikalisch-chemischer Natur in verschiedener Richtung auftreten. Die weitere Fragestellung muß sich jetzt mit der Ursache dieser Prozesse und der *Analyse der Strahlenwirkung* befassen. Da nun, wie aus den bisherigen Versuchen zu ersehen ist, Stabilitätsänderungen eine große Rolle spielen und wiederum die Stabilität von Eiweißlösungen von der H<sup>+</sup>-Konzentration durchaus abhängig ist, so ergibt sich die zwingende Notwendigkeit, die einzelnen Eiweißkörper unter Berücksichtigung ihrer isoelektrischen Punkte *bei variiertes Wasserstoffzahl* zu untersuchen. Eiweißkörper sind Ampholyte und bilden mit Säuren und Basen Salze, und zwar treten sie bei einer H<sup>+</sup>-Ionenkonzentration, die größer als die des isoelektrischen Punktes ist, als Kationen, bei niedrigerer H<sup>+</sup>-Ionenkonzentration als Anionen auf. Im isoelektrischen Punkte ist die Summe der Anionen und Kationenkonzentration ein Minimum, der Dissoziationsrest, d. i. das Verhältnis der undissoziierten Moleküle zur Gesamtkonzentration, ein Maximum. Alkoholzahl, Viscosität, Koagulationstemperatur haben hier ihr Minimum. Eine Albuminlösung von  $p_H = 4,7$  ist isoelektrisch. Sie ist stabil und flockt im Gegensatz zum Globulin nicht, das seinen isoelektrischen Punkt bei  $p_H = 5,4$  hat.

Ich habe nun zunächst untersucht, ob das für den isoelektrischen Punkt charakteristische Flockungsmaximum durch die Bestrahlung verschoben bzw. verändert wird. Zu dem Zwecke habe ich Acetatgemische verschiedener Wasserstoffzahl hergestellt, in denen nur der Gehalt an Essigsäure variierte, dagegen die Natriumacetatkonzentration konstant gehalten wurde, und die alle mit dest. Wasser auf das gleiche Volum aufgefüllt wurden. Zu diesen Gemischen wurde je 1 cem der unbestrahlten und bestrahlten Albumin- oder Globulinlösung zugefügt. Den Albuminpufferlösungen mußte dann noch, um eine Trübung zu erhalten, überall die gleiche, vorher ausprobierte Menge 96proz. Alkohols zugegeben werden. Die Flockung wurde nach  $\frac{1}{4}$  Stunde abgelesen und ist durch Kreuze bezeichnet.

Albumine	Bestr.-Dauer	$p_H$	3,5	3,8	4,1	4,4	4,7	5,0	5,3	5,6	5,9
	0		—	+	++	++++	++++	++	+	—	—
	10		—	++	++	++++	++++	++++	++	+	—
Globuline			3,5	3,8	4,1	4,4	4,7	5,0	5,3	5,6	5,9
	0		+	++	++	++++	++++	++	+	—	—
	10		++	++++	++++	++++	++++	++++	++	+	—

Aus den Versuchen ist ersichtlich, daß die Flockungszone nach der Bestrahlung erheblich zunimmt. Eine Verschiebung kann auf diese Weise nicht festgestellt werden. Das Flockungsmaximum für die Globuline liegt nicht, wie man erwarten sollte, bei  $p_H = 5,4$ , dem isoelektrischen Punkt der Globuline. Das rührt daher, daß die Globuline gegen 0,9% NaCl-Lösung dialysierten und das Cl-Anion das Flockungsmaximum nach der sauren Seite verschiebt<sup>1)</sup>. Die Flockungszone für Fibrinogenlösungen ist zu breit, um Unterschiede erkennen zu lassen.

Weit interessanter sind die Ergebnisse der Untersuchungen, die zeigen, welche Veränderungen die Eiweißlösungen erleiden, wenn sie von vornherein bei variierter Wasserstoffzahl der Bestrahlung ausgesetzt werden.

Ich führe folgendes Versuchsbeispiel an:

### VIII.

Zu je 10 ccm einer *Albuminlösung*, die 10 Tage gegen destilliertes Wasser dialysierte wurden Acetatgemische untenstehender Wasserstoffzahl zugesetzt und mit dest. Wasser auf gleiches Volum aufgefüllt.

Dest. Röhrrh.	Bestr. Dauer	Alkoholzahl		Ammonsulfat-Zahl		Koag.-Temperatur		
		unb.	bestr.	unb.	bestr.	unb. Grad	bestr. Grad	
1	6,0	6	0,9	0,45	1,25	1,05	70	59
2	5,4	6	0,6	0,3	1,05	0,95	68	55
3	4,7	6	0,4	0,2	0,95	0,70	61	52
4	4,1	6	0,35	0,2	0,70	0,35	63	63
5	3,5	6	0,45	0,4	0,40	0,25	80	80

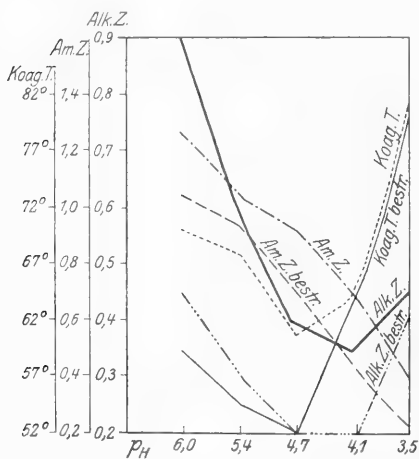


Abb. 8.

Nach 2 Stunden tritt in Röhren 3 leichte Opaleszenz auf, die rasch zunimmt und sich gegen Ende der Bestrahlung zu starker Trübung steigert, Röhren 2 und 4 zeigen nach 6 Stunden geringe Opaleszenz, 1 und 5 bleiben unverändert. Auf tropfenweisen Zusatz von NaOH tritt in 4 und 5 gleichstarke Trübung auf wie in Röhren 3, ein Beweis, dafür, daß Strahlenwirkung und Flockung zwei ganz verschiedene Prozesse sind, worauf auch *Bovie* schon hingewiesen hat, daß also aus der Intensität der auftretenden

Flockung keinerlei Schlußfolgerungen auf die an den Eiweißkörpern sich abspielenden Vorgänge gemacht werden können.

<sup>1)</sup> *Michaelis* und *von Szent Györgyi*, *Bioch. Zeitschr.* **103**, 178. 1920.



Die Betrachtung der Kurven zeigt folgendes: Alkoholzahl, Koagulationstemperatur der unbestrahlten Proben haben ihr Minimum im isoelektrischen Punkt, weil die Albuminlösung hier am instabilsten ist, der Dissoziationsrest ein Maximum hat. Je mehr Eiweiß ionisiert, um so mehr steigt die Koagulationstemperatur und die Alkoholzahl. Die Ammonsulfatzahl hingegen ist lediglich abhängig von der  $H^+$ -Konzentration, ganz unabhängig vom isoelektrischen Punkt und nimmt mit fallendem  $p_H$  proportional ab. Wenn wir jetzt den Verlauf der Veränderungen in den bestrahlten Proben verfolgen, so zeigen sich merkwürdige Differenzen. Die Ammonsulfatzahl nimmt überall gleichmäßig ab und ihre Kurve läuft innerhalb der Versuchsfehler der der Kontrolle parallel, das heißt also, die Bestrahlung hat überall zu der gleichen Verminderung der Stabilität geführt. Ganz anders verlaufen die Kurven für die Alkoholzahl und die Koagulationstemperatur. Auf der alkalischen Seite des isoelektrischen Punktes sind die Differenzen zwischen Kontrolle und bestrahltem Albumin sehr erheblich, nehmen immer mehr und mehr ab und verschwinden auf der sauren Seite vom isoelektrischen Punkt fast vollkommen. Ich sagte vorher, daß auf Zusatz von NaOH in Röhrchen 4 und 5 dieselbe Trübung auftrat wie in 3, daß also, wie auch die Ammonsulfatkurve beweist, die absolute Stabilitätsverminderung überall dieselbe ist. Die Flockung durch Hitze oder Alkohol aber ist abhängig vom Ionisationszustand des Eiweiß, und dieser von der  $H^+$ -Konzentration der Lösung. Um uns nun den Verlauf der Kurven der bestrahlten Proben auf der alkalischen Seite vom isoelektrischen Punkt zu erklären, könnten wir die Annahme machen, daß die Lösungen durch die Strahlenwirkung etwas saurer geworden wären, und damit die Konzentration der undissoziierten Moleküle zugenommen hätte. Mit dieser Erklärung würde auch die Beobachtung in Einklang zu bringen sein, die sich aus der Betrachtung der Kurven ergibt, daß nämlich *das Stabilitätsminimum für Alkohol- und Ammonsulfatfällbarkeit in den bestrahlten Lösungen etwas nach links verschoben ist.*

Ich stellte nun zunächst orientierende Versuche mit der Indicatorenmethode an, die *in Albumin- und Globulinlösungen einen Anstieg der  $H^+$ -Konzentration nach 6–10 stündiger Bestrahlung bis fast um eine Zehnerpotenz ergaben.* Um genauere Werte zu erhalten und um den Eiweiß- und Salzfehler der Indicatoren auszuschalten, habe ich dann eine größere Zahl von Messungen in der Wasserstoffkette angestellt und diese Werte mit denen der Indicatorenmethode verglichen. Es stellten sich bald erhebliche Schwierigkeiten ein, die ich näher darlegen werde. Ich benutzte anfangs Elektroden mit strömendem Wasserstoff und fand da immer  $p_H$ -Differenzen, die erheblich niedriger waren, wie die mit Indikatoren erhaltenen. Wir nahmen dann an, daß vielleicht

Kohlensäure sich bildete, die durch die Wasserstoffdurchleitung ausgetrieben würde. Wenn nun durch eine bestrahlte Globulinlösung, der Methylrot als Indikator zugesetzt war, Wasserstoff längere Zeit geleitet wurde, so wurde die Lösung deutlich gelber, aber wurde nie so gelb wie die unbestrahlte Kontrolle, auch nicht bei noch so langer Durchleitung von Wasserstoff. Um das Entweichen der anscheinend sich bildenden Kohlensäure zu verhüten, habe ich Elektroden mit stehender Gasblase verwendet. Auch hier zeigten sich bei den Messungen wieder Überraschungen. Es stellte sich nämlich heraus, daß Serum, Globuline, Albumine gewonnen aus dem Blut verschiedener Tiere, sich ganz different verhielten. Zwar konnte ich fast immer eine Säuerung feststellen, außer in ganz seltenen Fällen, wo erst nach sehr langer Bestrahlungszeit eine geringe Konzentrationszunahme der H-Ionen auftrat; jedoch war der Grad der  $p_{\text{H}}$ -Differenz zwischen bestrahlten und unbestrahlten Lösungen ein ganz verschiedener.

Zur Erläuterung führe ich folgende Versuchsbeispiele an:

Serum: Bestr.-Dauer	$p_{\text{H}}$	Serum: Bestr.-Dauer	$p_{\text{H}}$
0	7,44	0	7,52
1	7,31	2 $\frac{1}{2}$	7,45
2	7,30	4	7,40
3	7,18	5	7,41
5	7,14	7	7,40
6	7,07	9	7,25
7	6,92		
8	6,87		
Globuline: Bestr.-Dauer	$p_{\text{H}}$	Globuline: Bestr.-Dauer	$p_{\text{H}}$
0	5,54	0	5,85
3	5,36	3	5,78
6	5,05	6	5,71
8	4,84	9	5,66
Albumine: Bestr.-Dauer	$p_{\text{H}}$	Albumine: Bestr.-Dauer	$p_{\text{H}}$
0	6,12	0	6,04
3	6,12	2 $\frac{1}{2}$	6,01
6	6,05	5	5,94
8	6,06	8	5,90
		10	5,85

Es ist durchaus nötig, daß diese wichtigen und auffälligen Veränderungen weiter aufgeklärt werden. Die großen Differenzen, die in der H'-Verschiebung bei Bestrahlung verschiedener Sera auftreten und die uns vorläufig ganz unverständlich sind, lassen den Gedanken aufkommen, daß möglicherweise in manchen Sera Stoffe vorhanden sind, die besonders empfindlich auf die Bestrahlung reagieren. Natürlich können diese Substanzen auch an die verschiedenen Eiweißfraktionen adsorbiert sein, da ja die mittels fraktionierter Fällung mit Ammoniumsulfat gewonnenen Eiweißkörper keineswegs als rein bezeichnet werden

können. Sollte dieser Fall zutreffen, so würden dadurch der weiteren Untersuchung und der chemischen Analyse erhebliche Schwierigkeiten in den Weg gelegt, andererseits bleibt aber die *biologische Wichtigkeit* der Tatsache ungeschmälert. Schon allein die Möglichkeit einer immerhin für den Organismus beträchtlichen Säurebildung kann uns zum Teil die Entzündungserscheinungen erklären, die bei gewissen Krankheiten durch Lichtwirkung hervorgerufen werden. Man könnte da allerdings einwenden, im Körper würde die Säure so schnell neutralisiert, daß es durch Säuerung allein nicht zu Entzündungserscheinungen kommen könnte. Nun werden aber die ultravioletten Strahlen schon zum allergrößten Teil in der Epidermis absorbiert, ihre Wirkung kommt also vor allem in den oberflächlichen Schichten zum Ausdruck, und hier kann sich sehr wohl eine lokale Säurebildung vollziehen, ohne daß sie schnell neutralisiert zu werden braucht. Wie dem auch sei, jedenfalls ist für uns die durch die Bestrahlung bewirkte Verschiebung der H<sup>+</sup> ein Indikator dafür, daß recht bedeutungsvolle chemische Umwandlungen vor sich gehen müssen. Wie ich schon weiter oben sagte, vermuteten wir, daß auch Kohlensäure abgespalten würde. Wenn sich diese Annahme bestätigt und wenn die Kohlensäure dem Eiweiß entstammt, dann müssen ganz außerordentlich starke Abbauprozesse vor sich gehen. Eine weitere Ursache für die Säuerung wäre in einer Umlagerung in der Peptidbindung, einem Übergang von der Laktim- in die Laktamform zu suchen,



wie sie von *Fernau* und *Pauli*<sup>1)</sup> bei der Verschiebung der H<sup>+</sup>-Konzentration, die sie bei wochenlanger Radiumbestrahlung von Albuminlösungen beobachteten, angenommen wurde.

Es schien mir wegen der Unübersichtlichkeit der Verhältnisse durchaus notwendig, die Versuche, wie sie in der bisherigen Weise ausgeführt wurden, abzubrechen und sie an reinen Eiweißkörpern, wie z. B. dem kristallisierten Albumin, fortzuführen. Diese Untersuchungen sind noch in den Anfängen und ich werde darüber in einer späteren Mitteilung berichten.

Ich habe anfangs geglaubt, die Stabilitätserhöhungen, die sich im Globulin und Fibrinogen, vor allem im Verhalten der Koagulationstemperatur zeigen, auf die Verschiebung der H<sup>+</sup>-Konzentration zurückführen zu können, indem ich annahm, daß diese Eiweißkörper, deren isoelektrischer Punkt dem Neutralpunkt bedeutend näher liegt wie der des Albumins, durch die Bestrahlungswirkung über ihren iso-

<sup>1)</sup> *Fernau* und *Pauli*, Koll. Ztschrft. Bd. XXX, Heft 1, 1922.

elektrischen Punkt hinaus in Kationen umgewandelt, die Albumine hingegen, die eine stetige Stabilitätsverminderung zeigen, diesem zugeführt würden. Diese Auffassung ist aber offenbar unhaltbar geworden. Wenn ich auch bei den Globulinen öfters zunächst einen Abfall der Koagulationstemperatur wahrnahm, die dann später wieder anstieg, so zeigte sich doch schon in der allerersten Zeit der Bestrahlung eine außerordentliche Verbreiterung der Koagulationszone, und es kam überhaupt nicht mehr zu grober Flockung bei Erwärmung bis zu 80°. Es müßten ja die Globuline, wenn sie ihren isoelektrischen Punkt durch die Einwirkung der Strahlung erreicht hätten, ausflocken und dann erst könnte eine Peptisation eintreten. Nun waren meine Globulinlösungen stets ammoniumsulfat- und koehsalzhaltig. Das Flockungsmaximum wird durch die Anionwirkung nach der sauren Seite verschoben. Wir hätten insofern praktisch dieselben Verhältnisse wie beim Albumin. Wir müßten also, wenn die H<sup>+</sup>-Konzentration allein ausschlaggebend wäre, einen ähnlichen Verlauf der Koagulationstemperaturkurve erwarten wie beim Albumin. Ausschlaggebend ist ferner, daß die Stabilitätserhöhung immer eintritt, während die Verschiebung der H<sup>+</sup>-Konzentration von ganz wechselnder Intensität ist. Es handelt sich bei dem entgegengesetzten Verhalten der Albumine und Globuline wohl um Dispersitätsänderungen, die vielleicht durch eine Umwandlung in der chemischen Struktur bedingt sind. Wir dürfen auch nicht vergessen, daß wir bei Betrachtung der Vorgänge nicht nur die Ampholytnatur der Eiweißlösungen zu berücksichtigen haben, sondern auch die Veränderungen, die sich an den undissoziierten Molekülen und Molekülaggagaten, die zweifellos durch die Strahlenwirkung suspensoiden Charakter erhalten, nicht vernachlässigen dürfen. Welche Wirkung hier die Bestrahlung hat, ob vielleicht der *Hallwachs*-effekt in Betracht kommt, vermag ich jetzt noch nicht zu entscheiden.

#### *Oberflächenspannung.*

*Die Änderung der Oberflächenspannung durch die Bestrahlung ist sehr ausgesprochen, und zwar nimmt das Tropfenvolum von Globulinlösungen und Serum erheblich, das von Albuminlösungen weniger stark ab.*

Globuline: Bestr.-Dauer	Tropfenvolum	Serum: Bestr.-Dauer	Tropfenvolum
0	20,1	0	23,4
4	19,5	4	23,0
8	18,9	8	22,6
11	18,2	11	22,1
Albumin: Bestr.-Dauer		Tropfenvolum	
	0		22,3
	4		22,2
	8		22,0
	11		21,8

Der Messung der Oberflächenspannung von Fibrinogenlösungen stellten sich große Schwierigkeiten entgegen. Die Lösungen waren immer stark fadenziehend, sehr klebrig, auch bei starker Verdünnung, so daß weder mit der Tropfenmethode noch der Bestimmung der capillaren Steighöhe brauchbare Werte zu erzielen waren. Auch bei Anwendung der Methode, die *Czapek* beschrieben hat, und bei der man den Druck mißt, der nötig ist, um eine Luftblase zum Abreißen zu bringen, erhielt ich Werte, die nicht reproduzierbar sind. Es ist ja auch begreiflich, daß eine klebrige Flüssigkeit, die dem Gelzustand nahe steht, auch der Bildung einer Luftblase einen erheblichen mechanischen Widerstand entgegengesetzt. Beim Pferdeplasma liegen die Verhältnisse ähnlich.

Wir müssen uns nun fragen, wovon die Oberflächenspannungsänderung einer Eiweißlösung abhängig sein kann. Zunächst interessiert uns das Verhalten bei variiertem Wasserstoffzahl. Darüber sind Untersuchungen von *Bottazzi*<sup>1)</sup> und seinen Schülern angestellt worden, die besagen, daß die Oberflächenspannungserniedrigung mit der Zunahme des Dissoziationsrestes wächst, daß also im isoelektrischen Punkt ein Minimum der Oberflächenspannung liegt. Das stimmt auch überein mit dem Verhalten vieler oberflächenaktiver Körper, die undissoziiert viel capillaraktiver sind wie ihre stark dissoziierten Salze. Weiterhin ist die Möglichkeit gegeben, daß Dispersitätsänderungen die Oberflächenspannung beeinflussen, und endlich können durch die Bestrahlung capillaraktive Stoffe abgespalten werden.

Folgender Versuch möge den Verlauf der Änderungen demonstrieren:

Pferdeserum wurde 5 Tage gegen dest. Wasser dialysiert, die ausgefallenen Globuline in der Zentrifuge mit Wasser gewaschen, aufgeschwemmt, durch tropfenweisen Zusatz von  $\text{NaOH}$  gelöst, mit  $\frac{1}{10}$  HCl bis zur stärksten Trübung versetzt. Die Suspension wurde in 4 Reagensgläser verteilt. Zu 1  $\frac{1}{10}$  NaOH, zu 3 und 4  $\frac{1}{10}$  HCl zugetropft und mit Wasser auf gleiches Volum aufgefüllt. Die H-Konzentrationen wurden in der Gaskette gemessen.

	$p_{\text{H}}$	Bestr.-Dauer Std.	Tropfenvolum		Differenz
			unbestr.	bestr.	
1	$p_{\text{H}} = 8,02$	9	25,6	23,4	2,2
2	$p_{\text{H}} = 5,76$	9	23,1	22,7	2,4
3	$p_{\text{H}} = 3,03$	9	25,7	24,2	1,5
4	$p_{\text{H}} = 2,31$	9	25,9	25,0	0,9

Es ist aus dem Versuch ersichtlich, daß in der Gegend des isoelektrischen Punktes ein Minimum der Oberflächenspannung liegt, sowohl bei bestrahlten, wie unbestrahlten Proben. Die Differenz des Tropfenvolumens zwischen bestrahlter und unbestrahlter Lösung auf der alkalischen Seite des isoelektrischen Punktes ist erheblich größer als auf der sauren. Die Deutung ist nicht ohne weiteres klar. Es besteht

<sup>1)</sup> *Bottazzi* und *Agostino*, Rendic. D. R. Acc. Dei Lincei **21**, 561. 1912.

neben Dispersitätsverschiedenheiten die Möglichkeit einer differenten chemischen Veränderung. Da nämlich die Globuline, wie es die kürzlich erschienenen interessanten Untersuchungen von *Jarisch*<sup>1)</sup> wahrscheinlich machen, Adsorptionsverbindungen mit Fettsäuren oder Lipoiden sind, so ist es leicht denkbar, daß auf der alkalischen Seite vom isoelektrischen Punkt diese Bindungen durch die Bestrahlung leichter gelöst werden als auf der sauren. Die Verhältnisse müssen durch weitere Versuche geklärt werden.

### Viscosität.

Ich komme jetzt auf die Änderung der inneren Reibung zu sprechen, die bei der Bestrahlung von Eiweißlösungen zutage tritt, und die sich überall in sehr ausgesprochener Weise in einer *beträchtlichen Erhöhung der Viscosität* zu erkennen gibt. Am meisten betroffen werden die instabilen Fraktionen, das Globulin und Fibrinogen, am wenigsten das Albumin. Zweifellos ist es ein und derselbe Prozeß, der sich hier abspielt. Um aber aus den Viscositätsbestimmungen auf die Strahlenwirkung Schlüsse ziehen zu können, müssen wir uns über die Ursache der inneren Reibung von Eiweißlösungen Klarheit verschaffen. Es ist von *Laqueur* und *Sackur* zuerst die Viscosität von Eiweißlösungen bei variierter Wasserstoffzahl gemessen worden, und diese Autoren haben gefunden, daß die innere Reibung im isoelektrischen Punkt ihr Minimum hat, zu beiden Seiten ansteigt, ein Maximum erreicht und dann wieder abfällt. *Laqueur* und *Sackur* haben angenommen, daß die Eiweißionen die Träger der inneren Reibung sind, und *Pauli*<sup>2)</sup>, der sehr eingehende Untersuchungen über diese Frage anstellte, schließt sich dieser Meinung an, indem er annimmt, daß die Ionen deshalb für die Erhöhung der inneren Reibung verantwortlich zu machen sind, weil sie hydratisiert sind. Seine Untersuchungen sowie die seiner Mitarbeiter stimmen mit dieser Annahme sehr gut überein. In den Versuchen, die mit wochenlang dialysiertem Albumin angestellt sind, wird gezeigt, daß das Maximum der Viscosität mit dem Maximum der Ionisation zusammenfällt. Wenn wir aber nun diese *Pauli*sche Hydratationstheorie auf unsere Versuchsergebnisse anwenden wollen, so wird es uns ganz unmöglich, eine Erklärung für die Viscositätssteigerungen zu geben, die durch die Bestrahlung entstehen. Es ist ganz offensichtlich, daß hier *die Viscositätszunahme ganz unabhängig davon auftritt, welche H<sup>+</sup>-Konzentration gewählt wird, im Gegenteil gerade im isoelektrischen Punkt, wo also eine Hydratation nicht in Betracht kommt, findet eine enorme Viscositätssteigerung statt.*

Als Beispiel führe ich folgenden Versuch an:

<sup>1)</sup> *Jarisch*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **194**, 337. 1922.

<sup>2)</sup> *Pauli*, Kolloidchemie der Eiweißkörper, 1. Hälfte. Dresden u. Leipzig 1920.

*Albumin* in Acetatgemischen.

	Bestr.-Dauer Std.	Viscosität		Differenz
		unbestr.	bestr.	
$p_H = 6$	6	49,0	49,3	0,3
$p_H = 5,4$	6	48,8	49,3	0,5
$p_H = 4,7$	6	48,7	52,0	3,3
$p_H = 4,1$	6	49,5	51,2	1,7
$p_H = 3,5$	6	51,7	52,1	0,4

Aus der Differenz der Viscosität zwischen bestrahltem und unbestrahltem Albumin sollte man schließen, daß nicht die Eiweißionen, sondern gerade der undissoziierte Anteil, und zwar dessen Fähigkeit, Aggregate zu bilden, worunter ich nicht nur sichtbare Komplexe verstehe, sondern gerade Zusammenlagerungen der Moleküle zu submikroskopischen Massen, die die Lösung nicht trüben, die Ursache der Viscositätssteigerung sind.

Diese Annahme findet in den kürzlich veröffentlichten sehr eingehenden Untersuchungen von *Jaques Loeb*<sup>1)</sup> eine außerordentliche Stütze. *Loeb* fand, daß Aminosäuren und krystallisiertes Eieralbumin bei variiertem Wasserstoffzahl in sehr weiten Grenzen überall gleiche Viscosität zeigten, daß erst bei einem sehr niedrigen  $p_H$ , etwa bei 1,0, die Albuminlösung einen Anstieg in der inneren Reibung hatte. Er schließt daraus, daß die Eiweißionen nicht die Träger der inneren Reibung sein können. In seiner theoretischen Betrachtung geht er aus von der Formel, die von *Einstein* gefunden wurde,

$$\eta = \eta_0(1 + 2,5\varphi).$$

worin  $\eta$  die innere Reibung der Lösung,  $\eta_0$  die des Lösungsmittels und  $\varphi$  das Verhältnis des Volums der dispersen Phase zum Gesamtvolumen und 2,5 eine Konstante bedeutet. Die Formel gilt nur dann, wenn  $\varphi$  klein ist und der Radius der suspendierten Partikel klein ist im Verhältnis zu ihrem Abstand voneinander. Diese Formel hat dann später weitere Umformungen erhalten, vor allem von *Arrhenius*, der sie in eine auch für Systeme, in denen  $\varphi$  verhältnismäßig groß ist, anwendbare Form gebracht hat:

$$\log \eta - \log \eta_0 = \delta\varphi.$$

*Loeb* weist nun experimentell für Albuminlösungen, Gelatine-suspensionen und -Lösungen sowie für Caseinlösungen nach, daß die gemessene Viscosität mit der aus dem Volumen der dispersen Phase errechneten übereinstimmt. Er weist ferner nach, daß das Volumen lediglich abhängig ist von den Neutralteilchen bzw. den Aggregaten, von deren Gehalt an eingeschlossenem Wasser wiederum die Volumen-

<sup>1)</sup> *J. Loeb*, Journ. of Gen. Physiol. **3**, 827. 1920—21; **4**, 73, 97. 1921—22. Siehe ferner *J. Loeb*, Proteins and the Theory of Colloidal Behavior, New York 1922.

änderung abhängt. Er findet genau wie *Pauli* im isoelektrischen Punkt ein Minimum der Viscosität, des osmotischen Druckes, der Leitfähigkeit und sowohl auf der alkalischen wie auf der sauren Seite einen Anstieg. *Loeb* führt weiter aus, daß der Wassergehalt der Aggregate, auf den es ankommt, reguliert wird durch das *Donnan*gleichgewicht, das sich immer dann einstellt, wenn ein nicht permeables Ion in einer durch eine Membran von Wasser getrennten Lösung vorhanden ist. Als Membran fungiert das durch Aneinanderlagerung der Micellen gebildete Aggregat, das nicht permeable Ion ist das betreffende Proteinanion oder Kation, je nachdem  $p_H$  größer oder kleiner ist wie  $p_H$  des isoelektrischen Punktes. Daß tatsächlich ein *Donnan*gleichgewicht sich ausbildet, beweisen die Potentialdifferenzen, die zwischen Suspensionsmittel und disperser Phase auftreten und die sowohl berechnet wie gemessen wurden, und daß jenes den Verlauf der Viscositätskurve bestimmt, zeigt ein sehr eindeutiger Versuch. *Loeb* suspendierte Caseinchlorid verschiedener H<sup>+</sup>-Konzentration, wartete 1 Stunde bis zur Ausbildung des *Donnan*gleichgewichtes und fand dann bei der H<sup>+</sup>-Konzentration des Schwellungsmaximums einen erheblichen Anstieg der Viscosität. Nach weiteren 21 Stunden war das Caseinchlorid teilweise in Lösung gegangen und ionisiert, die Viscositätsmessung ergab dann beim  $p_H$  des Maximums der Ionisation einen deutlichen Abfall der inneren Reibung.

Für unsere Betrachtungen haben wir in Übereinstimmung mit den Untersuchungen *Loeb*s daran festzuhalten, daß *die Steigerung der Viscosität, die durch die Bestrahlung von Eiweißlösungen durch ultraviolette Strahlen bewirkt wird, nur auf Aggregatbildung beruhen kann*, das Wachsen des Quotienten  $\varphi = \frac{\text{Volum der dispersen Phase}}{\text{Gesamtvolum}}$  wird bedingt durch das Wasser, welches bei der Zusammenlagerung der Micellen zu Aggregaten eingeschlossen wird. Die Viscositätsmessungen geben also sowohl einen wichtigen Einblick in die Theorie der inneren Reibung von Eiweißlösungen, als auch sind sie ein feiner Indicator für einen Teil der Veränderungen, die durch die Bestrahlung auftreten. Es ist ja schon länger bekannt, daß man durch ultraviolettes Licht Eiweißlösungen ausflocken kann, aber durch die Viscositätssteigerung wird schon der erste Beginn der Aggregatbildung angezeigt, der dann schließlich zur Koagulation führt.

In diesem Zusammenhange möchte ich noch auf einen Zustand hinweisen, der oft mit der inneren Reibung verwechselt wird; das ist die Klebrigkeit. Ich habe schon weiter oben bei Besprechung der Oberflächenspannungsänderung darauf hingewiesen, daß Fibrinogenlösungen, die eine viel schnellere Ausflußgeschwindigkeit durch ein Viscosimeter haben, wie z. B. Serum stark fadenziehend und klebrig



sind, so daß es nicht möglich ist, die Capillaraktivität solcher Lösungen einwandfrei zu bestimmen. Es handelt sich hier zweifellos um einen Zustand, der der Gelbildung nahe steht, vielleicht bedingt durch eine netzförmige Aneinanderlagerung der Micellen. Daß es sich hier nicht nur um eine Zustandsänderung handelt, wie sie durch das Fällen und Wiederlösen des Niederschlages bedingt sein kann, geht daraus hervor, daß ich öfters frisches Pferdeplasma untersucht habe, daß ausgesprochen fadenziehend war. Die Theorie dieser schwierigen Verhältnisse ist von *Hess* und *Hatschek* dargelegt worden<sup>1)</sup>.

### Zusammenfassung.

Mit ultraviolettem Licht bestrahlte Globuline und Fibrinogenlösungen zeigen Stabilitätserhöhungen, die sich in einem Anstieg der Koagulationstemperatur und einer Verbreiterung der Koagulationszone bemerkbar machen. Ammonsulfat- und Alkoholzahl bleiben unverändert oder lassen nur geringe Differenzen erkennen. Dagegen nehmen Koagulationstemperatur, Ammonsulfat- und Alkoholzahl der Albumine proportional mit der Bestrahlungsdauer ab.

Die Goldzahl bestrahlter Globuline und des Fibrinogens ändert sich nicht, während beim Albumin geringe Erhöhung der Schutzwirkung eintritt.

Durch die Bestrahlung von Serum, Albumin und Globulin wird eine Verschiebung der H<sup>+</sup>-Konzentration nach der sauren Seite bewirkt, die aber nicht immer konstant ist und deren Intensität anscheinend bei verschiedenen Sera verschieden stark ist.

Die Oberflächenspannung nimmt proportional der Bestrahlungszeit ab, am wenigsten beim Albumin. Ihre Veränderung ist abhängig von der H<sup>+</sup>-Konzentration.

Die innere Reibung nimmt überall mit der Bestrahlungsdauer zu. Es wird gezeigt, daß sie von der Aggregatbildung abhängig ist, was im Einklang steht mit der kürzlich von *J. Loeb* entwickelten Theorie der Viscosität von Eiweißlösungen.

<sup>1)</sup> Zitiert nach *Freundlich*, Capillarchemie. Leipzig 1922.

# Das Blut der Haustiere mit neueren Methoden untersucht.

## III.

### Differentialzählungen der Lymphocyten und Monocyten im Pferde-, Rinder- und Hundeblood.

Von

Hermann Herrel, Legelshurst (Baden).

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Gießen.)

(Eingegangen am 8. Juli 1922.)

#### Inhalt.

1. Einführung (S. 560).
2. Bisherige Differentialzählungen (S. 561).
3. Neue Differentialzählungen (S. 563).
  - a) Methoden (S. 563).
  - b) Resultate (S. 566).
4. Gesamtergebnis (S. 569).

#### 1. Einführung.

Bei der Untersuchung des Blutes der Haustiere, die im hiesigen Physiologischen Institut mit neueren Methoden zurzeit durchgeführt wird, ergaben sich bezüglich der Unterscheidung der Lymphocyten von den Monocyten<sup>1)</sup> bei der Chromoanalyse nach der jetzt wohl am meisten angewandten *Pappenheimschen* Methode (kombiniertes *May-Grünwald-Giemsa-Verfahren*) Schwierigkeiten. Wenn nun *O. Naegeli* (a. a. O. S. 177) schreibt: „Die scharfe sofortige Trennung gegenüber Lymphocyten ist heute in jedem guten Giemsa-Präparat höchst einfach“, so kann dies zunächst doch nur für den erfahrenen Hämatologen und für menschliches Blut Geltung haben. Für eine große Zahl von Untersuchern und in verschiedenartigem Blute bleiben die Schwierigkeiten trotz Berücksichtigung aller die beiden Leukocytenarten trennenden Kriterien nach wie vor bestehen, und es ist dem persönlichen Ermessen anheimgestellt, die Zelle in die eine oder andere Klasse einzureihen. Nur durch Spezialfärbungen, die eine genaue Unterscheidung der beiden Leukocytenarten ermöglichen, können diese Schwierigkeiten behoben werden.

---

<sup>1)</sup> Monocyten = große Mononucleäre und Übergangsformen *Ehrlichs*, siehe *O. Naegeli*, Blutkrankheiten und Blutdiagnostik, 3. Aufl., S. 177. Berlin und Leipzig 1919.

Auf Anregung von Herrn Professor *Bürker* habe ich die Untersuchung des Blutes von Pferden, Rindern und Hunden, die seinerzeit schon *P. Kuhl*<sup>1)</sup> summarisch vorgenommen hat, mit besonderer Berücksichtigung der Lymphocyten und Monocyten unter Anwendung von Spezialfärbungen wiederholt, denn es ist zur Charakterisierung des Blutes dieser Tiere nötig, zu exakten Prozentzahlen für diese Leukocytenarten zu gelangen.

## 2. Bisherige Differentialzählungen.

Die Zahl der Arbeiten über Leukocytendifferenzierung im Blute von Pferden, Rindern und Hunden ist nicht sehr groß. Untersuchungen, welche die Feststellung der absoluten Zahl der Leukocyten in 1 cmm Blut zum Ziel hatten, liegen in größerer Anzahl vor.

### *Das Blut der Pferde.*

Auf die Untersuchungen über die *Gesamtzahl der Leukocyten* im Pferdeblut will ich, um Wiederholungen zu vermeiden, nicht näher eingehen, ich verweise bezüglich der Literatur auf die bereits erwähnte Arbeit von *P. Kuhl* (S. 266), in welcher Durchschnittswerte von 9,15—11,02 Taus. für 1 cmm Blut bei ausgewachsenen Tieren angegeben werden. Nachzutragen wäre noch eine weitere Literaturangaben enthaltende Arbeit von *P. Meier*<sup>2)</sup>, der bei 6 Wallachen im Mittel 8,99, bei 6 Stuten im Mittel 7,95 Taus. zählte.

*Kuhl* selbst fand bei der Untersuchung von 10 Pferden (meist Stuten und Wallache) einen Durchschnittswert von 10,30 Taus.

Im Jahre 1919 ist eine Arbeit von *Axel Schulze*<sup>3)</sup> erschienen, der das Blut gesunder und rotzkranker Pferde untersucht hat. *Schulze* gibt als Mittelwert bei 14 gesunden Pferden 10,65 Taus. an, ein Befund, der mit dem von *Kuhl* erhobenen sehr gut übereinstimmt.

Die Beurteilung der Arbeiten über *Leukocytendifferenzierungen* ist bei dem Mangel an einheitlicher Bezeichnung der einzelnen Leukocytenarten nicht leicht. Nur wenige Autoren haben ihren Untersuchungen die Nomenklatur *Ehrlichs* zugrunde gelegt. Die hierher gehörigen Arbeiten findet man gleichfalls bei *Kuhl* (S. 266) zitiert. Aus diesen Arbeiten berechnete *Kuhl* als Mittelwert für das Pferd 30% Lymphocyten, 4% Monocyten, 63% polymorphkernige Neutrophile, 3% Eosinophile und < 1% Basophile.

*P. Meier* (a. a. O. S. 15) gibt als Mittelwerte der untersuchten 12 Tiere 30% Lymphocyten, 3,5% Monocyten, 63,5% Neutrophile und 3% Eosinophile an.

*A. Schulze* (a. a. O.) teilt als Resultat seiner an den 14 Pferden vorgenommenen Untersuchungen rund folgende Werte mit: 34% Lymphocyten, 6% Monocyten, 56% Neutrophile, 3% Eosinophile und 0,5% Basophile. *Schulze* erwähnt außerdem, daß ihm die Trennung der großen Lymphocyten von den Monocyten oft sehr schwer fiel.

*P. Kuhl* fand bei den 10 Pferden als Durchschnittswerte 38% Lymphocyten, 4% Monocyten, 54% Neutrophile, 4% Eosinophile und < 1% Basophile. Die Werte der beiden zuletzt genannten Autoren stimmen gut miteinander überein und zeigen gegenüber den Befunden der obengenannten Untersucher keine großen Differenzen.

<sup>1)</sup> *P. Kuhl*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **176**, 263. 1919.

<sup>2)</sup> *P. Meier*, Beiträge zur vergleichenden Blutpathologie. Vet.-med. Dissertation Zürich 1905 und Zeitschr. f. Tiermedizin **10**, 1. 1906.

<sup>3)</sup> *Axel Schulze*, Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilkunde. **45**, 123. 1919.

Was das

*Blut der Rinder*

betrifft, so ist die Zahl der Arbeiten über Leukocytenzählungen und -differenzierungen nicht klein. Es sei mir gestattet, bezüglich der bis jetzt ermittelten Zahlen auf die Literaturangaben in der *Kuhlschen* Arbeit (a. a. O. S. 268) hinzuweisen. Als Mittelwerte für Bullen, Ochsen und Kühe gibt *A. Storch* 7,84, 9,37 und 8,24 Taus., *H. Turowski* 10,43, 9,38 und 7,65 Taus. an. Bei seinen eigenen Versuchen an 10 Tieren, meist Ochsen und Kühen, kam *P. Kuhl* zu einem Durchschnittswert von 7,23 Taus. für die Ochsen, 7,93 für die Kühe, Gesamtmittel 7,90 Taus.

Von der mir zugänglichen, auch schon von *Kuhl* zitierten Literatur über *Leukocyten*differenzierungen nenne ich zuerst die Arbeit von *H. Turowski*, in welcher als Durchschnitt für das Rind 45,4% Lymphocyten, 7,4% Monocyten, 40,2% Neutrophile, 6,4% Eosinophile und 0,6% Basophile angegeben werden. Zu ähnlichen Resultaten kommt *Du Toit*, nämlich 49,0% Lymphocyten, 3,7% Monocyten, 38,8% Neutrophile, 8,0% Eosinophile und 0,5% Basophile. Etwas andere Werte finden *Dimock* und *Thompson*<sup>1)</sup>, nämlich 54% Lymphocyten, 2% Monocyten, 31% Neutrophile, 13% Eosinophile und < 1% Basophile.

Abweichend von den bisher genannten Autoren stellte *P. Kuhl* eine noch stärkere lymphatische Beschaffenheit des Rinderblutes fest, er fand 64% Lymphocyten, 10% Monocyten, 21% Neutrophile, 5% Eosinophile und < 1% Basophile. Für diese lymphatische Beschaffenheit des Rinderblutes macht *Du Toit* die ununterbrochene Tätigkeit des Magendarmkanals beim Wiederkäufer verantwortlich.

*Das Blut der Hunde.*

Über *Leukocytenzählungen* im Hundeblut liegen nur wenige Angaben vor. Aus einer Arbeit von *J. Pohl* berechnet *P. Kuhl* (a. a. O. S. 270) als Mittelwert für 10 Hunde 15,43 Taus. *C. Klieneberger* und *W. Carl*<sup>2)</sup> dagegen fanden bei gleichviel Hunden im Mittel 10,56 Taus., also um etwa 30% weniger. Während ferner *Pohl* nach Fleischfütterung eine beträchtliche Verdauungsleukocytose — Zunahme um 78% — beobachtete, konnten *Klieneberger* und *Carl* eine solche Leukocytose nicht nachweisen. Nach *C. Zenoni*<sup>3)</sup> beträgt der Mittelwert bei Hunden — Angaben über Zahl, Alter, Geschlecht der von ihm untersuchten Tiere werden nicht gemacht — dagegen nur 7,00 Taus. *P. Kuhl* selbst fand bei 2 weiblichen und 8 männlichen Tieren verschiedener Rasse durchschnittlich 12,60 Taus. Die Werte weichen also beträchtlich voneinander ab.

Genauere Mitteilungen über *Leukocyten*differenzierungen habe ich nur bei *Klieneberger* und *Carl* sowie bei *Kuhl* gefunden. *Klieneberger* und *Carl* geben als Mittelwert an: 15,6% Lymphocyten, 2,8% Monocyten, 77,36% Neutrophile, 4,2% Eosinophile, 0,04% Basophile. Zu anderen Werten kam *Kuhl* bei seinen 10 Tieren, nämlich zu 25% Lymphocyten, 8% Monocyten, 57% Neutrophilen, 10% Eosinophilen, < 1% Basophilen. Wohl findet man in der Literatur noch weitere Angaben über *Leukocyten*differenzierungen beim Hunde, doch können alle diese Arbeiten bei dem Mangel an einheitlicher Benennung der einzelnen Leukocytenarten nicht recht zum Vergleich herangezogen werden. *C. Zenoni* (a. a. O. S. 541) teilt die Leukocyten ein in kleine und mittelgroße mononucleäre, in große mononucleäre, in polynucleäre und in eosinophile Leukocyten. Aus seinen Versuchen ergeben sich folgende Zahlen: 28% Mononucleäre, 62% Polynucleäre, 10% Eosinophile.

1) Zitiert bei *Du Toit*, S. 27.

2) Zitiert bei *Kuhl* a. a. O. S. 270.

3) *C. Zenoni*, Zieglers Beitr. z. pathol. Anat. 16, 541. 1894.

*Heyl* und *Krüger*<sup>1)</sup> unterscheiden nur zwei Arten im normalen Hundeblood und zählen 75—80% polynucleäre und 20—25% mononucleäre Leukocyten.

Wie sich aus der mitgeteilten Literatur ergibt, bestehen, was die Leukocytenzählung und Differenzierung betrifft, noch mancherlei widersprechende Angaben. Einen Beitrag zur Klärung dieser Verhältnisse sollen die folgenden Untersuchungen liefern.

### 3. Neue Differentialzählungen.

#### a) Methoden.

Über die Methoden, die bei meinen Untersuchungen zur Anwendung kamen, sei folgendes mitgeteilt. Bei der Untersuchung jeder Tierart war es zunächst nötig, die absolute Zahl der in 1 cmm Blut enthaltenen Leukocyten, sodann an der Hand von Ausstrichpräparaten das prozentische Verhältnis der einzelnen Leukocytenarten und schließlich an einem Kontrollpräparat des gleichen Blutes mit Hilfe einer Spezialfärbung noch besonders das Verhältnis der Lymphocyten zu den übrigen Leukocyten festzustellen. Da die Monocyten von den Neutro-, Eosino- und Basophilen leicht zu unterscheiden sind, so ergab sich nach exakter Ermittlung der Lymphocyten auch genau die Zahl der Monocyten.

Die *Blutentnahme* erfolgte beim Pferde aus der Vena jugularis, beim Rind und Hund erwies sich als der geeignetste Ort zur Blutentziehung die Außenfläche der Ohrmuschel. Nach Entfernung der Haare und Reinigung der betreffenden Stelle mit Äther-Alkohol setzte ich mit dem *Franckeschen* Instrument zur Blutentziehung eine kleine Wunde, aus welcher in den meisten Fällen genügend Blut austrat. Das hervorquellende Blut wurde in einem ausgehöhlten Paraffinblock aufgefangen. Das Blut der Wunde direkt zu entnehmen war bei der Unruhe der Tiere nicht recht durchführbar, nur beim Hund ist es mir in einigen Fällen gelungen.

Die *Zählung der Leukocyten* geschah nach der Methode von *Bürker*<sup>2)</sup>. Es wurden 25 cmm Blut zu 475 cmm *Türkischer* Lösung hinzugefügt, also eine 20fache Verdünnung des Blutes vorgenommen. Die Zählkammer wurde durch Verwendung eines mit einem Einschliff von 0,100 mm versehenen Deckglases auf die doppelte Höhe von 0,200 mm gebracht. Ausgezählt wurden in jeder Kammerhälfte je 125 Quadrate. Man brauchte dann nur noch die ermittelte Leukocytenzahl mit 10 zu multiplizieren, um die Zahl der Leukocyten in 1 cmm Blut zu erhalten.

Über die Anfertigung der Ausstrichpräparate sind in der Arbeit von *Kuhl* (a. a. O. S. 272) genauere Angaben enthalten. Erwähnen will ich nur, daß sich das Trocknen des Präparates in den feuchten, schwülen Ställen sehr verzögert. Das Blut erfährt dadurch Veränderungen, und das Präparat wird für die weitere Untersuchung unbrauchbar. Ich habe die beiden Deckgläschen sofort nach dem Auseinanderziehen in die frische Luft gebracht, wo das Trocknen in wenigen Augenblicken erfolgte. Die lufttrockenen Präparate wurden nach der *Pappenheim*-schen Methode (kombiniertes *May-Grünwald-Giemsa*-Verfahren) gefärbt, und zwar nach der Vorschrift, wie sie *Naegeli* (a. a. O. S. 16) gibt, nur mit der Änderung,

<sup>1)</sup> Zitiert nach *Zenoni* S. 541.

<sup>2)</sup> *K. Bürker*, Tigerstedts Handbuch der physiologischen Methodik 2, Abt. 5, S. 111. 1913.

daß ich die Zeit der Einwirkung der verdünnten Giemsalösung auf 15 Minuten erhöhte, anstatt 10—12 Minuten, da ich im Anfang öfters eine zu schwache Kernfärbung im Präparat erhielt. Die Erythrocyten des Rinderblutes zeigten vielfach Stechapfelformen und Agglutinationserscheinungen, eine Beobachtung, die auch *Kuhl* gemacht hat.

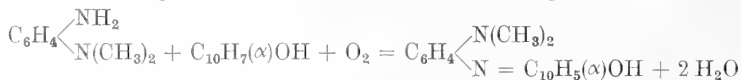
Die Präparate des Hundebutes unterschieden sich schon makroskopisch gegenüber denen der anderen Tiere. Bei gleicher Färbungsdauer zeigten sie eine viel intensivere allgemeine Rotfärbung, was offenbar mit dem höheren Hämoglobingehalt der Hunderythrocyten, wie ihn *Kuhl* bei seinen Untersuchungen festgestellt hat, in Zusammenhang steht.

Zu den Differentialzählungen der Leukocyten benutzte ich das monobjektive Binokular-Mikroskop der optischen Werke *E. Leitz* in Wetzlar, ich kann das angenehme Arbeiten mit diesem ausgezeichneten Instrument gerade bei dieser Art von Untersuchungen nur bestätigen.

Die Erkennung der einzelnen Leukocytenarten war abgesehen von den großen Lymphocyten und kleinen Monocyten nicht schwierig. Bei der Differenzierung wurden in jedem Präparat 1000 Leukocyten berücksichtigt.

Es sind nun zur Unterscheidung der Abkömmlinge des lymphatischen Systems von denen des myeloischen, zu denen ja auch die Monocyten gehören, einige Methoden angewandt worden, welche alle darauf beruhen, daß die Zellen des myeloischen Systems oxydierende Fermente enthalten, die Lymphocyten dagegen nicht.

In erster Linie wäre hier als unterscheidende Methode die Indophenol-Blausynthese nach *F. Winkler*<sup>1)</sup> zu nennen, die von *W. H. Schultze*<sup>2)</sup> weiter ausgebaut worden ist. Zur Vornahme der Reaktion bedarf man zweier Lösungen von 1.  $\alpha$ -Naphthol und 2. Dimethylparaphenyldiamin (basicum). Beim Zusammenbringen dieser beiden Lösungen wird bei Sauerstoffzutritt nach folgender Formel



synthetisch ein Farbstoff, der zu den Indophenolen gehört, gebildet, was in der freien Luft nur ganz allmählich geschieht.

Beschleunigt wird diese Farbstoffbildung durch Zusatz eines Oxydationsfermentes. Ebenso erfolgt sofortige Bläuung an denjenigen Stellen des Gewebes, wo solche Fermente sich befinden. Solche Stellen sind die Granula der leukocytären Zellen des myeloischen Systems. Späterhin hat *F. Winkler*<sup>3)</sup> noch gezeigt, daß die Reaktion anstatt mit dem leicht zersetzlichen Dimethylparaphenyldiamin auch mit einer alkoholischen Sudanlösung ausgeführt werden kann, wenn man in bestimmter Weise verfährt.

Mit der zuletzt genannten *Schultze*schen Methode habe ich nun die Differentialzählungen durchgeführt. Angaben über solche Zählungen im Blut der Haustiere habe ich in der Literatur nicht finden können.

Die zur Vornahme der Reaktion nötigen Lösungen wurden folgendermaßen hergestellt.

1. 1 proz. *alkalische  $\alpha$ -Naphthollösung*.

1 g  $\alpha$ -Naphthol wird mit 100 ccm dest. Wasser zum Kochen erhitzt und dann tropfenweise so viel konzentrierte Kalilauge zugesetzt, bis sich das geschmolzene  $\alpha$ -Naphthol vollständig gelöst hat. Die überstehende, erkaltete Flüssigkeit ist brauchbar.

1) *F. Winkler*, *Fol. haematol.* **4**, 323. 1907 und **14**, 23. 1912.

2) *W. H. Schultze*, *Münch. med. Wochenschr.* **56**, 167. 1909 und *Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat.* **28**, 8. 1917.

3) *F. Winkler*, *Folia haematol.* **14**, 23. 1912.

2. 1proz. Lösung von Dimethylparaphenylendiaminbase (von *Merck* in Röhren zu 0,5 g) in dest. Wasser kalt hergestellt. Die Lösung ist erst nach einigen Tagen brauchbar. Da beide Lösungen nur etwa 4 Wochen haltbar sind, empfiehlt es sich, dieselben in geringerer Menge, als oben angegeben, und erst kurz vor Gebrauch anzufertigen, um sich vor Mißerfolgen zu schützen.

Die für Blutausstriche geeignete Reaktion ist nach *Naegeli* (a. a. O.) folgende:

1. *Fixation*: 4% Formol ca. 5 Minuten oder Müllerfixation. Ältere Präparate brauchen nicht besonders fixiert zu werden, frische sind in Formolalkohol 2 Stunden zu fixieren.

2. *Färbung*: Einlegen der Präparate in etwas verdünnte 1proz. wässrige  $\alpha$ -Naphthollösung für ca. 3 Minuten, dann sofort ohne Abtrocknen oder Abwaschen in die 1proz. Dimethylparaphenylendiaminlösung, wobei die Schnitte oder Ausstriche bald eine deutlich blaue Färbung annehmen. Man kann auch eine Mischung gleicher Teile der beiden Lösungen benutzen.

Untersuchung nach Trocknen zwischen Fließpapier. Die Präparate sind nicht lange haltbar.

Herr Professor *Bürker* hat bei früheren Versuchen<sup>1)</sup> je einen Tropfen der beiden Lösungen auf einen Objektträger gebracht, gemischt, das fixierte Präparat mit der Schichtseite nach unten auf die Mischung gelegt und so ohne weiteres schöne Resultate erhalten.

Diese Methode habe auch ich in folgender Weise angewandt. Die Blutausstriche wurden in 4%-Formol etwa 4 Minuten fixiert und dann mit dest. Wasser abgespült. Die roten Blutkörperchen gaben dabei das Hämoglobin ab und blieben als Schatten sichtbar. Auf einem Objektträger brachte ich dann 1—2 Tropfen dest. Wasser und dazu einen Tropfen einer Mischung gleicher Teile von den beiden Lösungen, die ich vorher in ein Uhrschälchen filtriert hatte. Nach Durchmischung mit einem Glasstab wurde das Präparat mit der Schichtseite nach unten auf die Lösung gebracht und so mikroskopisch untersucht. Die Reaktion trat sofort ein.

Die Verdünnung mit dest. Wasser habe ich deshalb vorgenommen, weil bei Anwendung der 1proz. Lösungen die Reaktion zu intensiv auftritt, so daß es unmöglich ist, einzelne Granula zu unterscheiden. Dieselbe Beobachtung hat auch *S. Gräff*<sup>2)</sup> gemacht, der schreibt: „Außerdem führt die Überladung der myeloischen Zellen mit dem gebildeten Naphtholblau zu einer besonders starken blauen Diffusion in die Nachbarschaft jener Zellen und zu einer Ablagerung von Farbstoffkörnchen, die wohl mit der eigentlichen Abwicklung der Zellreaktion nichts zu tun haben.“ *Gräff* stellt seine Lösungen in einer Verdünnung von 1 : 500—600 Wasser her und erhält ausgezeichnete Resultate.

Untersucht man nun das Präparat, so findet man bei allen Zellen des myeloischen Systems die Granula prachtvoll blau gefärbt, während der Kern ungefärbt bleibt und wie ein ausgesparter weißer Fleck in der Zelle erscheint. Allmählich bekommt auch das Plasma zwischen den Granula eine diffuse blaue Färbung, so daß es den Anschein hat, als sei die Zelle von einem mehr oder weniger breiten blauen Saum umgeben. Die eosinophilen Zellen zeigen die Reaktion am intensivsten, wie man das an den massigen Granula der eosinophilen Leukocyten des Pferdeblutes besonders schön beobachten kann. Die Neutrophilen und Monocyten geben die Reaktion in gleicher Stärke und lassen keine spezielle Unterscheidung zu.

Die Lymphocyten zeigen keinerlei Reaktion; sie sind ungefärbt, von runder oder schwach ovaler Gestalt und zeigen eine homogene, schwach grünlich-gelbe

<sup>1)</sup> Tigerstedts Handbuch der physiologischen Methodik 2, Abt. 5, S. 131. 1912.

<sup>2)</sup> *S. Gräff*, Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 27, 313. 1916.

Farbe und eine etwas dunklere Konturierung. Bei entsprechender Abbildung des Gesichtsfeldes bieten sich für ihre Erkennung keinerlei Schwierigkeiten. Sie zeigen außerdem bei Hebung des Mikroskoptubus deutlichen Glanz, den Hebeglanz.

In diesem Zusammenhang möchte ich einen Befund von *F. Winkler*<sup>1)</sup> erwähnen, der die Indophenolblausynthese auch an Ausstrichen von einigen Laboratoriumstieren vorgenommen hat. *Winkler* fand entgegengesetzt dem Verhalten beim Menschen im Blute von Kaninchen und Meerschweinchen und in Milzausstrichen von Hunden eine Blaufärbung des Kerns und ein Freibleiben des Plasmas von der Färbung. Ich kann diesem Befund *Winklers* nicht beistimmen. Ich finde auch beim Hunde, wenigstens was die Blutausstriche betrifft, eine ebensolche schöne Blaufärbung der Granula wie beim Blute der anderen Tiere. Als einzigen Unterschied beim Hundeblut finde ich, daß die Granula in einer großen Anzahl von Zellen nicht in so dichter Anordnung gelagert sind wie im Pferde- und Rinderblut. Was das Blut der Kaninchen und Meerschweinchen betrifft, so hat *A. Dietrich*<sup>2)</sup> auch für diese Tiere eine Blaufärbung der Granula und ein Freibleiben des Kerns nachgewiesen.

Bei der Differentialzählung berücksichtigte ich ebenso wie im *Pappenheim*-Präparat 1000 Leukocyten. Ein Einbetten des Präparats in Canadabalsam ist zu unterlassen, da dadurch der blaue Farbstoff aufgelöst und das Präparat unbrauchbar wird.

### b) Resultate.

#### *Das Blut der Pferde.*

Von den mir zur Verfügung stehenden Pferden wählte ich die am besten genährten Tiere aus, die sich sämtlich in gesundem Zustande befanden. Zur Untersuchung kamen fünf Wallache und fünf Stuten.

*Versuche vom 4.—8. Mai 1920.*

Pferd Nr.	Geschlecht	Alter in Jahren	Größe in Metern	Rasse	Ernährungszustand	Zeit der Blutentziehung	Leukocyten in 1 cmm Blut in Tausenden	Leukocytenarten in Prozenten nach						
								Pappenheim					Indophenolblausynthese	
								Lymphocyten	Monocyten	Neutrophile	Eosinophile	Basophile	Lymphocyten	Übrige Leukocyten
1	Wallach	9	1,74	Belgier	gut	10 <sup>h</sup> v.	8,67	29	5	59	7	<1	31	69
2	"	6	1,64	mittelschwer. Zugpferd	"	10 <sup>1/2</sup> <sup>h</sup> v.	10,10	36	4	54	6	<1	37	63
3	"	10	1,68	Reitpferd	"	12 <sup>h</sup> v.	9,75	30	2	63	4	1	30	70
4	"	7	1,70	Ostpreuße	mittelm.	10 <sup>h</sup> v.	10,02	33	4	57	5	<1	34	66
5	"	11	1,72	"	gut	11 <sup>h</sup> v.	11,35	32	6	59	3	<1	31	69
6	Stute	11	1,72	"	mittelm.	11 <sup>h</sup> v.	9,97	32	4	60	4	<1	30	70
7	"	10	1,70	Oldenburger	gut	12 <sup>h</sup> v.	8,59	43	4	51	2	<1	48	52
8	"	11	1,74	Belgier	"	11 <sup>1/2</sup> <sup>h</sup> v.	8,29	32	4	60	4	<1	32	68
9	"	14	1,68	mittelschwer. Zugpferd	"	2 <sup>1/2</sup> <sup>h</sup> v.	9,74	26	3	68	3	<1	29	71
10	"	7	1,70	Ostpreuße	"	4 <sup>h</sup> v.	10,99	33	4	60	3	<1	34	66
Durchschnittswerte:							9,747	32,6	4,0	59,1	4,1	<1	33,6	66,4

<sup>1)</sup> *F. Winkler*, a. a. O. 4, 324. 1907.

<sup>2)</sup> *A. Dietrich*, Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 19, 4. 1908.



Die Resultate dieser Untersuchungen habe ich in vorstehender Tabelle zusammengestellt. Leider war es mir nicht möglich, das Blut von Hengsten zu untersuchen.

Als *Leukocytenzahl* pro cmm Blut berechne ich im Durchschnitt für alle Pferde 9,75 Tausend; der Schwankungsbereich ist kein großer, niederster Wert 8,29, höchster 11,35 Tausend. Für Wallache beträgt der Wert 9,98, für Stuten 9,52 Tausend. Die niedersten Werte weisen nach meinen Untersuchungen Pferde des kaltblütigen Schlages auf, eine Beobachtung, die auch A. Rössle<sup>1)</sup> gemacht hat.

Als *Leukocytenformel* für das Pferd finde ich nach der *Pappenheim'schen Methode*: 33% Lymphocyten, 4% Monocyten, 59% Neutrophile, 4% Eosinophile und <1% Basophile.

Meine Befunde stimmen gut mit denen von *Schulze, Kuhl* und den auf S. 561 erwähnten Autoren überein.

Nach der *Indophenolblausynthese* bekomme ich als Durchschnittswert für Lymphocyten 34% und für die übrigen Leukocyten 66%.

Die beiden verschiedenen Methoden führen also im Pferdeblut zu fast gleichen Resultaten.

Das Blut der Rinder.

Zur Untersuchung kamen drei männliche und sieben weibliche Tiere. Kälber und männliche Tiere in größerer Zahl zu untersuchen, war mir nicht möglich. Die folgende Tabelle enthält die Resultate der Untersuchung.

Versuche vom 11.—29. Mai 1920.

Rind Nr.	Geschlecht	Alter in Jahren	Rasse	Ernährungs- zustand	Zeit der Blut- entnahme	Leukocyten in 1 cmm Blut in Tausenden	Leukocytenarten in Tausenden nach							
							Pappenheim					Indophenol- blausynthese		
						Lympho- cyten	Monocyten	Neutrophile	Eosinophile	Basophile	lympho- cyten	übrige Leukocyten		
1	Bulle	1½	Simmental	mittelmäß.	4 <sup>h</sup> n.	7,88	52	8	39	1	<1	55	45	
2	Ochse	2	"	gut	3 <sup>h</sup> n.	9,17	66	8	22	4	<1	69	31	
3	"	2½	"	"	5 <sup>h</sup> n.	9,62	52	4	42	2	<1	51	49	
4	Kuh	7	"	mittelmäß.	5 <sup>h</sup> n.	6,29	48	7	40	5	<1	50	50	
5	Jungrind	2	"	gut	5 <sup>h</sup> 30' n.	8,46	61	5	32	2	<1	61	39	
6	Kuh <sup>2)</sup>	9	"	mittelmäß.	11 <sup>h</sup> v.	5,71	41	17	28	13	1	44	56	
7	"	10	"	"	4 <sup>h</sup> n.	9,88	58	11	28	3	<1	61	39	
8	"	8	Vogelsberg	"	11 <sup>h</sup> v.	8,75	54	6	30	10	<1	56	44	
9	"	14	Simmental	gut	12 <sup>h</sup> v.	7,17	36	16	35	13	<1	35	65	
10	"	9	"	mittelmäß.	4 <sup>h</sup> n.	8,51	36	7	41	16	<1	38	62	
Durchschnittswerte:						8,144	50,4	8,9	33,7	6,9	<1	52,0	48,0	

1) A. Rössle, Untersuchungen über das Verhalten der Leukocytenzahl im Pferdeblut. S. 16. Med.-vet. Dissertation Gießen 1903.

2) Der Schlachtbefund ergab geringgradige Tuberkulose.

Für das Rind berechne ich als *Mittelwert für alle untersuchten Tiere* 8,14 Tausend; niederster Wert 5,71, höchster 9,88 Tausend. Bulle 7,88, Ochsen 9,40, Kühe 7,82. Die von mir gefundenen Werte stimmen mit den Angaben von *Storch*, *Turowski*, *Du Toit* und *Kuhl* relativ gut überein.

Als *Leukocytenformel* stelle ich *nach der Pappenheimschen Methode* für das Rind fest: 50% Lymphocyten, 9% Monocyten, 34% Neutrophile, 7% Eosinophile, < 1% Basophile. Den hohen Gehalt des Rinderblutes an Lymphocyten, wie ihn *P. Kuhl* fand, kann ich nicht bestätigen, obwohl ich gleich ihm Rinder Simmentaler Rasse untersuchte. Die Versuche von *Kuhl* fallen aber in den Winter (Januar 1919), während meine eigenen im Frühjahr 1920 vorgenommen wurden. *Turowski*, *Du Toit*, *Dimock* und *Thompson*, mit denen meine Ergebnisse gut übereinstimmen, machen über das Datum ihrer Untersuchungen keinerlei Angaben.

*Die Differentialzählung der Lymphocyten nach der Indophenolblausynthese* ergab für dieselben einen Mittelwert von 52%, für die übrigen Leukocyten einen solchen von 48%, ein Ergebnis, das nur wenig von dem nach der *Pappenheimschen Methode* gewonnenen abweicht.

Die myeloischen Leukocyten zeigen auch im Rinderblut die Indophenolblausynthese durch ihre Granula sehr schön. Die Zählung der Lymphocyten macht etwas größere Schwierigkeiten. Da die Lymphocyten 50% aller Leukocyten ausmachen und im Präparat alle ungefärbt sind, so ist man leicht geneigt, einzelne zu übersehen oder doppelt zu zählen und dadurch zu einem falschen Resultat zu gelangen. Durch entsprechende Verkleinerung des Gesichtsfeldes kann man jedoch dieser Schwierigkeiten leicht Herr werden.

#### *Das Blut der Hunde.*

*Als Mittelwert für die von mir untersuchten sieben Rüden und drei Weibchen* berechne ich auf Grund der in der folgenden Tabelle enthaltenen Versuchsergebnisse 10,61 Tausend.

Der niederste Wert beträgt 7,57, der höchste 19,04 Tausend, der allerdings von einem jugendlichen Tiere stammt mit wohl noch physiologischer Leukocytose; der nächsthöchste Wert beträgt nur 14,94 Tausend. Der Schwankungsbereich ist also wesentlich größer als bei den anderen untersuchten Tierarten. Rüden im Mittel 11,46, Weibchen 8,63 Tausend.

Ob eine Verdauungsleukocytose, die ja, wie erwähnt, nach den Versuchen von *J. Pohl* für den Hund in Betracht zu ziehen ist, bei meinen Tieren in Frage kommt, kann ich nicht entscheiden, da ich keinerlei Anhaltspunkte über die Futteraufnahme habe.

Versuche vom 11. bis 25. Mai 1920.

Hund	Geschlecht	Alter in Jahren	Rasse	Ernährungs- zustand	Zeit der Blut- entziehung	Leukocyten in 1 cmm Blut in Tausenden	Leukocytenarten in Prozenten nach							
							Pappenheim					Indophenol- blausynthese		
Nr.							Lympho- cyten	Monocyten	Neutro- phile	Eosino- phile	Basophile	Lympho- cyten	Übrige Leukocyten	
1	Rüde	1½	Dachshund	gut	4½ <sup>h</sup> n.	14,94	14	5	72	9	<1	15	85	
2	"	2	deutsches Kurzhaar	"	2½ <sup>h</sup> n.	10,28	24	8	60	8	<1	23	77	
3	"	3	Foxterrier	mittelmäß.	5 <sup>h</sup> n.	7,57	32	8	52	7	<1	30	70	
4	"	1½	deutsches Kurzhaar	gut	3 <sup>h</sup> n.	19,04	31	5	60	4	<1	32	68	
5	"	3	deutsches Kurzhaar	mittelmäß.	2 <sup>h</sup> n.	8,56	26	4	65	5	<1	25	75	
6	"	7	Dachshund	gut	3 <sup>h</sup> n.	7,86	22	6	63	9	<1	25	75	
7	"	2	Dobermann	mittelmäß.	10 <sup>h</sup> v.	11,95	19	9	65	7	<1	17	83	
8	Weibchen	4	Pinscher	"	4 <sup>h</sup> n.	8,74	22	6	62	10	<1	24	76	
9	"	4	deutsches Kurzhaar	sehr gut	3 <sup>h</sup> n.	8,07	20	6	64	9	<1	22	78	
10	"	5	Foxterrier	mittelmäß.	4 <sup>h</sup> n.	9,07	22	8	66	4	<1	24	76	
Durchschnittswerte							10,608	23,2	6,5	62,9	7,2	<1	23,7	76,3

Von den in der Literatur angegebenen Mittelzahlen stimmt mein Befund mit dem von *Klieneberger* und *Carl* noch am besten überein. *Kuhl* fand einen um 2 Tausend höheren Wert.

Das prozentische Verhältnis der einzelnen Leukocyten beläuft sich nach meinen Untersuchungen mit der *Pappenheimschen* Methode auf 23% Lymphocyten, 7% Monocyten, 63% Neutrophile, 7% Eosinophile und <1% Basophile. Ich kann also im wesentlichen die Angaben von *Kuhl*, weniger die von *Klieneberger* und *Carl* bestätigen, ebenso die Eosinophilie des Hundeblutes, was wohl mit dem Umstand zusammenhängt, daß sehr viele Hunde mit Bandwürmern behaftet sind.

Die Zählungen nach der *Indophenolblausynthese* ergaben einen Durchschnitt von 24% Lymphocyten und 76% übrige Leukocyten, also auch hier wieder einen Wert, der mit dem oben angegebenen, nach der anderen Methode erzielten praktisch zusammenfällt. In den myeloischen Leukocyten des Hundeblutes fand ich, wie bereits erwähnt, die Granula nicht in so dichter Anordnung wie bei den anderen Tierarten, in einer großen Anzahl von Zellen lagen äußerst feine, blaugefärbte Granula in loser Anordnung über die ganze Zelle verteilt.

#### 4. Gesamtergebnis.

Bei der Chromoanalyse der Leukocyten im Blute der Haustiere ergeben sich bezüglich der Unterscheidung der großen Lymphocyten

von den kleinen Monocyten Schwierigkeiten. Es wurden daher zur Kontrolle bei drei Tierarten, Pferd, Rind und Hund, Differentialzählungen nach zwei verschiedenen Methoden, der *Pappenheim*schen und der Indophenolblausynthese, vorgenommen, wclch letztere Methode eine sichere Unterscheidung der Lymphocyten von den übrigen Leukocyten ermöglicht. Da ferner im *Pappenheim*schen Präparat die Monocyten von den neutrophilen, eosinophilen und basophilen Leukocyten leicht zu unterscheiden sind, so ergab sich mit der Indophenolblausynthese indirekt auch eine Kontrolle der Monocytenwerte.

Die Resultate der nach diesen beiden Methoden an Pferden, Rindern und Hunden durchgeführten Differentialzählungen sind als Mittelwerte von je 10 Einzeluntersuchungen in der folgenden Tabelle enthalten.

Tierart	Leukocyten in 1 cmm Blut in Tausenden	Leukocytenarten in Prozenten nach						
		Pappenheim					Indophenolblausynthese	
		Lymphocyten	Monocyten	Neutrophile	Eosinophile	Basophile	Lymphocyten	Übrige Leukocyten
Pferd . .	9,75	<b>33</b>	4	59	4	< 1	<b>34</b>	66
Rind . .	8,14	<b>50</b>	9	34	7	< 1	<b>52</b>	48
Hund . .	10,61	<b>23</b>	7	63	7	< 1	<b>24</b>	76

Daraus geht hervor, daß die nach der *Pappenheim*schen Methode und die durch Indophenolblausynthese ermittelten Werte der Lymphocyten praktisch miteinander übereinstimmen, die letztere Methode hat sich aber doch als eine das Resultat sichernde, ausgezeichnete Kontrollmethode erwiesen.

Die die Indophenolblausynthese veranlassenden Granula in den Abkömmlingen des myeloischen Systems verhalten sich bei den einzelnen Tierarten etwas verschieden; sie liegen dichter in den Pferde- und Rinderleukocyten als in den Hundeleukocyten. Zwischen Monocyten- und Neutrophilengranula ist bei derselben Tierart ein Unterschied nicht bemerkbar, wohl aber sind die Eosinophilengranula massiger, und das gilt ganz besonders für die Riesengranula dieser Leukocytenart des Pferdes.

# Beiträge zur Pharmakologie der Körperstellung und der Labyrinthreflexe.

VII. Mitteilung<sup>1)</sup>.

## Oleum Chenopodii.

Von

Dr. J. J. Jonkhoff.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Reichsuniversität Utrecht.)

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. Juli 1922).

Bei Vergiftungen mit dem gegen Ankylostomum und Nekator erfolgreich verwendeten Wurmmittel Oleum Chenopodii werden unter anderen als Symptome Schwindel, schwankender Gang, Taubheit und Ohrensausen, Übelkeit und Erbrechen beschrieben. Eine nähere Untersuchung dieses Öls auf die Labyrinthreflexe fehlt bisher. Diese Lücke soll im nachstehenden ausgefüllt werden.

Zu diesem Zwecke wurde der Einfluß subcutaner und intravenöser Einspritzungen von Chenopodiumöl auf die Labyrinthreflexe bei Kaninchen, Katzen und Meerschweinchen untersucht.

### 1. Der Einfluß von Oleum Chenopodii auf die Labyrinthreflexe.

Diese Versuchsreihe wurde an Kaninchen angestellt, welche vorher sämtliche Labyrinthreflexe normal zeigten. Sie erhielten subcutan 0,3 cem pro kg Oleum chenopodii.

Als Beispiel diene folgendes Protokoll:

*Versuch 1.* 9. X. 1919 (Tabelle I).

Kaninchen 1,5 kg. Sämtliche Labyrinthreflexe deutlich vorhanden.

9<sup>h</sup> 30'. 0,3 cem pro kg Oleum chenopodii subcutan.

10<sup>h</sup>. Das Tier ist unruhig, Sämtliche Labyrinthreflexe sehr lebhaft, nur die tonischen Labyrinthreflexe auf die Extremitäten sind nicht gesteigert.

10<sup>h</sup> 30'. Die tonischen Labyrinthreflexe auf die Extremitäten sind nicht deutlich wahrzunehmen. Die Labyrinthstellreflexe auf den Kopf sind noch vorhanden, aber nicht mehr lebhaft. Die übrigen Labyrinthreflexe sind noch sehr lebhaft.

---

<sup>1)</sup> Die 1.—5. Mitteilung sind in den Acta oto-laryngologica (Bd. 4 ff.), die 6. Mitteilung in Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **193**, 396, 1922 erschienen.

10<sup>h</sup> 45'. Die Labyrinthstellreflexe sind bereits sehr schwach. Wenn man das Tier frei in der Luft in Seitenlage hält, wird der Kopf nicht mehr in den Normalstand gedreht. Die Halsstellreflexe und die Körperstellreflexe auf den Kopf und Körper sind noch schwach vorhanden. Das Tier verträgt auf dem Tisch Seitenlage, aber springt bei Berührung sofort in Normalstellung. Tonische Labyrinthreflexe auf die Extremitäten sind nicht mehr nachzuweisen. Auch die kompensatorischen Augenstellungen sind nicht mehr lebhaft. Drehreaktionen und die Reaktionen auf Progressivbewegung sind dagegen noch deutlich gesteigert.

11<sup>h</sup>. Das Tier liegt in Seitenlage auf dem Tisch, setzt sich auf sensiblen Reiz sofort auf. Es macht dauernd Kaubewegungen, hat aber keine Krämpfe. Die Labyrinthstellreflexe auf den Kopf fehlen vollständig, die anderen Stellreflexe sind noch schwach vorhanden, vor allem die Körperstellreflexe auf den Kopf. Die tonischen Labyrinthreflexe auf die Extremitäten sind verschwunden, die kompensatorischen Augenstellungen sehr abgeschwächt. Die Bogengangsreaktionen sind dagegen noch lebhaft vorhanden.

11<sup>h</sup> 15'. Das Tier springt plötzlich aus dem Käfig und gelangt in Seitenlage auf den Fußboden, setzt sich aber sofort in Normalstand auf. Danach bleibt es ruhig sitzen, die 4 Pfoten weit auseinander gestreckt, Kopf und Bauch auf dem Boden.

Von den Otolithenreflexen sind nur noch die kompensatorischen Augenstellungen sehr schwach vorhanden, die anderen fehlen. Die Reaktionen auf Progressivbewegung sind nicht mehr lebhaft, aber doch noch nachzuweisen.

11<sup>h</sup> 30'. Die Labyrinthstellreflexe auf den Kopf und die tonischen Labyrinthreflexe auf die Extremitäten fehlen. Die kompensatorischen Augenstellungen sind sehr abgeschwächt. Alle Drehreaktionen sind lebhaft. Die Liftreaktion ist schwach: bei Progressivbewegung nach unten werden die Hinterbeine gestreckt.

12<sup>h</sup>. Dasselbe Bild wie vor einer halben Stunde. Die kompensatorischen Augenstellungen und die Reaktionen auf Progressivbewegung sind etwas schwächer geworden. Das Tier zeigt leichte Muskelzuckungen. An den Augen sieht man spontane nystagmoide Bewegungen.

12<sup>h</sup> 15'. Die Labyrinthstellreflexe auf den Kopf und die tonischen Labyrinthreflexe auf die Extremitäten sind verschwunden, die kompensatorischen Augenstellungen schwach nachweisbar. Alle Drehreaktionen sind sehr lebhaft, auch die Liftreaktion ist nun sehr lebhaft. Die Pfoten werden am Ende der Liftbewegung nach oben fast krampfartig gestreckt. Der Reflex der Sprungbereitschaft ist nicht mehr deutlich nachzuweisen.

12<sup>h</sup> 30'. Alle Otolithenreflexe sind verschwunden.

Die Kopf- und Augendrehreaktionen und -nachreaktionen, Nystagmus und -nachnystagmus sind nicht mehr lebhaft, aber doch noch deutlich. Die Kopfdrehreaktion und -nachreaktion ist abgeschwächt. Die Liftreaktionen sind noch deutlich vorhanden, aber nicht mehr so stark. Die übrigen Reaktionen auf Progressivbewegung fehlen. Das Tier zeigt Zuckungen in den Extremitäten und den Augenmuskeln.

12<sup>h</sup> 45'. Heftiger Krampfanfall (Opisthotonus und Atemstillstand).

Direkt nach dem Krampfanfall sind die Drehreaktionen und -nachreaktionen auf Kopf und Augen höchst lebhaft, während Kopf- und Augendrehnystagmus und -nachnystagmus weniger lebhaft, d. h. schnell und klein sind, während des Drehens ist bei sehr starker Drehreaktion kein Nystagmus wahrzunehmen. Von den Reaktionen auf Progressivbewegung ist allein die Liftreaktion noch schwach vorhanden.

Die Otolithenreflexe sind nicht mehr nachzuweisen.

1<sup>h</sup>. Wieder ein allgemeiner Krampfanfall mit Atemstillstand und Opisthotonus. Die Labyrinthstellreflexe auf den Kopf fehlen. Die tonischen Labyrinthreflexe auf

die Extremitäten und die kompensatorischen Augenstellungen sind nicht mehr auszulösen.

Die Drehreaktionen und -nachreaktionen auf Kopf und Augen und die Liftreaktionen sind maximal gesteigert. Bei den Drehbewegungen oder Progressivbewegungen tritt starke tonische Kontraktion der hierbei beteiligten Muskeln ein. Die Reflexbewegungen treten krampfartig auf.

Kopf und Augendrehnystagmus und -nachnystagmus sind klein und schnell.

Der Reflex der Sprungbereitschaft läßt sich nicht mehr auslösen.

1<sup>h</sup> 15'. Dasselbe.

1<sup>h</sup> 25'. Tot. Bei der Sektion werden makroskopisch keine Abweichungen gefunden. In der Pleura findet sich etwas freie Flüssigkeit, die Darmperistaltik ist lebhaft.

Acht derartige Versuche am Kaninchen hatten das gleiche Ergebnis. *Stets trat ein Stadium auf, in welchem die Otolithenreflexe fehlten, während die Bogengangsreaktionen noch sehr deutlich vorhanden waren.*

Kopf- und Augendrehreaktionen und -nachreaktionen sowie die Liftreaktion blieben bis zum Tode bestehen und waren selbst im letzten Stadium maximal vorhanden. Vor dieser terminalen starken Steigerung trat ein Stadium auf, in welchem auch diese Reflexe auf Bewegung weniger lebhaft waren.

Die Labyrinthreflexe auf den Kopf verschwanden bei der Vergiftung bereits sehr schnell, und zwar in einem Stadium, in welchem die anderen Stellreflexe (Halsstellreflexe und Körperstellreflexe auf Kopf und Körper) noch deutlich vorhanden waren.

Die tonischen Labyrinthreflexe auf die Extremitäten ließen sich (an den Tieren, in welchen sie in der Normalperiode deutlich vorhanden gewesen waren) nach der Chenopodiumeinspritzung nicht mehr nachweisen. Eine Steigerung dieser Reflexe war nicht wahrzunehmen.

Die kompensatorischen Augenstellungen blieben unter den Otolithenreflexen am längsten nachweisbar, aber es trat stets ein Stadium ein, in welchem auch die kompensatorischen Augenstellungen verschwanden, während die Bogengangsreaktionen noch gut auszulösen waren.

Kopf- und Augendrehreaktionen und -nachreaktionen waren in allen Fällen eine halbe Stunde nach der Einspritzung von Chenopodium deutlich gesteigert. In diesem Stadium war auch Kopf- und Augendrehnystagmus und -nachnystagmus verstärkt. Manchmal trat hier nach ein Stadium auf, in welchem die Drehnystagmen besonders stark ausgesprochen waren, ähnlich wie das später für Chininvergiftung beschrieben werden wird. Im letzten Stadium der Vergiftung verursachte Drehen oder Progressivbewegung jeweils eine maximale krampfartige Kontraktion der bei diesen Reflexen in Tätigkeit tretenden Muskeln. An den Augen waren diese Kontraktionen so stark, daß beim Drehen allein die weiße Selera noch zu sehen war, so stark war die Augenabweichung. In diesem Stadium war dann Kopf- und Augendrehnystag-

mus und -nachnystagmus entweder überhaupt nicht mehr vorhanden oder sehr gering.

Die Reaktionen auf Progressivbewegung wechselten an Intensität mehr als die Drehreflexe. Nach der anfänglichen Steigerung der Liftreaktion folgte meistens vor den allgemeinen Krampfanfällen eine Abnahme derselben, manchmal waren sie dann auch überhaupt nicht mehr nachzuweisen. Im Stadium der großen Krampfanfälle trat dann aber die Liftreaktion stets mit maximaler Stärke auf, ebenso wie die Drehreaktion. Vor allem bei Bewegung nach unten oder beim Aufhören der Bewegung nach oben trat stets eine starke tonische Streckung der Vorderbeine auf.

Die Streckung der Hinterbeine bei Bewegung nach unten (Sprungbereitschaft) nahm in allen Fällen nach anfänglicher Steigerung allmählich ab. Dieser Reflex war meist in einem Stadium noch vorhanden, in welchem die Liftreaktionen nur noch schwach auszulösen waren. Später kam dann die Liftreaktion in maximaler Stärke zurück, während der Reflex der Sprungbereitschaft nicht mehr ausgelöst werden konnte.

### Zusammenfassung.

Die Bogengangsreaktionen werden durch *Chenopodium* nicht gelähmt. Kopf- und Augendrehreaktionen und die Liftreaktion waren noch im letzten Vergiftungsstadium nachweisbar, selbst stark gesteigert.

Dagegen werden die Otolithenreflexe bereits in einem frühen Stadium gelähmt, so daß stets *ein Stadium vorhanden ist, in welchem die Otolithenreflexe fehlen, die Bogengangsreflexe aber noch deutlich vorhanden sind.*

Im Anfangsstadium der Vergiftung werden die Bogengangsreflexe deutlich gesteigert, auch die Labyrinthstellreflexe und die kompensatorische Augenstellung sind in der ersten Stunde nach der Einspritzung sehr lebhaft, um dann schnell zu verschwinden.

### 2. Einfluß von *Chenopodium* auf die kalorischen Labyrinthreflexe auf die Augen.

Als Beispiel diene folgendes Protokoll:

Versuch 2. 19. X. 1919. (Abb. 1—3).

Kaninchen 1,5 kg.

9<sup>h</sup> Vormittags. Äthernarkose. Trachealkanüle, Abbindung beider Carotiden. Venenkanüle in der V. jugularis. Präparation des *Musc. externus* und *Rectus internus* am linken Auge. Die distalen Muskelenden werden durch Fäden mit den Schreibhebeln verbunden. Dauernde Ausspritzung des linken Ohrs mit Wasser von 10° C.

10<sup>h</sup> 15'. Beginn der Ausspritzung des linken Gehörgangs. Der *Musc. rectus externus sin.* geht in Kontraktion und zeigt einen sehr lebhaften Nystagmus. Umgekehrt verhält sich der *Rectus internus*. Auf den abgebildeten Kurven



sind allein die Bewegungen des Rectus externus wiedergegeben (Abb. 1, Beginn der Kurve). Die schnelle Komponente des Nystagmus bewirkt Abwärtsbewegung des Hebels.

10<sup>h</sup> 25'. 0,07 ccm Ol. chenopodii pro pg intravenös in 5% Emulsion

Etwa 1/2 Minute nach der Einspritzung nimmt die Deviation deutlich ab, und der Nystagmus hat nur noch ein Drittel der ursprünglichen Größe. Nach einigen Sekunden steigt die Deviation wieder auf ihren früheren Stand, der Nystagmus bleibt jedoch kleiner und langsamer als vor der Einspritzung. Deviation und Nystagmus werden außerdem unregelmäßig, indem in Zwischenräumen von einigen Sekunden eine vorübergehende Abnahme der Deviation und des Nystagmus auftritt, ähnlich wie direkt nach der Chenopodiumeinspritzung. (Siehe Ende von Abb. 1.)

10<sup>h</sup> 45'. Nochmalige Einspritzung von 0,07 ccm pro kg Ol. chenopodii intravenös in 5% Emulsion.

Auf Abb. 2 sieht man vor der Einspritzung, daß Deviation und Nystagmus (20 Min. nach der ersten Chenopodiumeinspritzung) noch stets unregelmäßig sind und den gleichen Typus wie am Ende von Abb. 1 zeigen. Deviation und Nystagmus sind kleiner geworden, und der Nystagmus ist wieder schneller als direkt nach der ersten Einspritzung.

Nach der zweiten Einspritzung entsteht dasselbe Bild wie nach der ersten. Die Deviation wird ungefähr eine halbe Minute nach der Injektion stark vermindert (der Muskel erschlafft), um dann wieder langsam anzusteigen, und zwar sogar höher als vor der Injektion. Gleichzeitig ist die schnelle Phase des Nystagmus geringer und langsamer geworden mit Unregelmäßigkeiten (Abb. 2).

Um 11<sup>h</sup> Unterbrechung der Ausspritzung des linken Gehörganges.

12<sup>h</sup>. Beginn der Ausspritzung des linken Gehörganges mit Wasser von 10° C. Deviation und Nystagmus sind nun sehr lebhaft, vor allem ist der Nystagmus lebhafter als eine Stunde vorher.

Intravenöse Einspritzung von 0,07 ccm Ol. Chenopodii pro kg in 5% Emulsion. Wieder tritt dasselbe Bild wie bei den vorigen Injektionen auf. Auch jetzt bleibt nach der vorübergehenden Erschlaffung eine gute Deviation vorhanden, während der Nystagmus klein, langsam und unregelmäßig wird.

12<sup>h</sup> 30'. Das Tier reagiert auf sensible Reize. Die Deviation ist noch sehr gut, der Nystagmus unregelmäßig, aber wieder stärker geworden. Nochmals dieselbe Chenopodiumdosis intravenös. Deviation und Nystagmus zeigen danach wieder dieselben Veränderungen. Der Nystagmus ist nur noch kleiner, unregelmäßiger und langsamer geworden.

1<sup>h</sup>. Um die Deviation deutlich erkennen zu können, wird jetzt die Ausspritzung unterbrochen (s. Abb. 3). Darauf nimmt die Deviation langsam ab, die Kontraktion des Musc. rectus externus sin. hört allmählich auf. Eine Nachwirkung der Ausspritzung auf Deviation und Nystagmus ist nicht nachweisbar. Das starke Absinken der Kurve beweist, daß die Deviation noch sehr stark war. Nach etwa 2 Minuten wird wieder mit Ausspritzen begonnen, sofort darauf eine sehr starke Kontraktion des Muskels (also noch sehr starke Deviation), wobei gleichzeitig ein langsamer und unregelmäßiger Nystagmus auftritt.

1<sup>h</sup> 5'. Nochmalige intravenöse Einspritzung von 0,07 ccm pro kg. Beim Beginn der Injektion stirbt das Tier. Bei der Sektion werden makroskopisch keine Abweichungen gefunden.

Abb. 1. Kaninchen. Bewegungen des isolierten Musculus rectus externus sin. Der erste Teil der Kurve vor den Pfeilen zeigt normalen Nystagmus bei dauernder Ausspritzung des linken Gehörganges mit Wasser von 10° C (Fallhöhe 1 m). Der Muskel ist in Kontraktion, die schnelle Phase des Nystagmus ist nach unten.

Zwischen den 2 Pfeilen wird 0,07 ccm Oleum Chenopodii (5% Emulsion) intravenös eingespritzt. Kurz nach der Injektion nimmt die Deviation ab, der Nystagmus hat nur noch ein Drittel seiner ursprünglichen Größe. Darauf kehrt

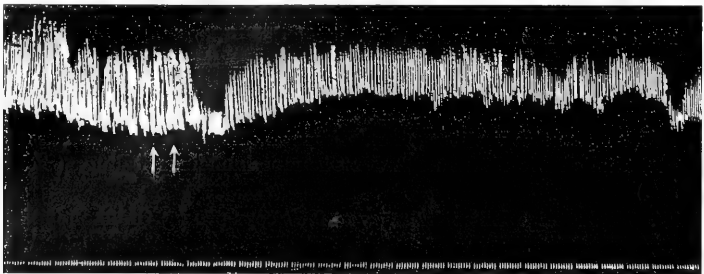


Abb. 1.

die Deviation schnell wieder auf das frühere Niveau zurück mit vorübergehenden, unregelmäßigen Verminderungen. Der Nystagmus bleibt nach der Einspritzung kleiner und langsamer.

Abb. 2. Im Anfang dieser Kurve sieht man den Nystagmus des Musc. rectus externus sin. 20 Minuten nach der ersten Chenopodiumeinspritzung (vgl. Abb. 1).

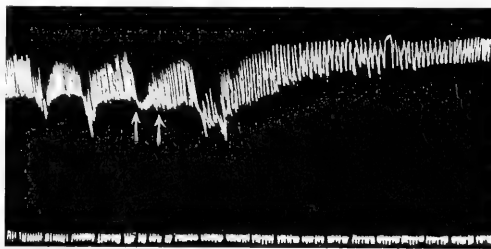


Abb. 2.

Wenn man diesen Nystagmus mit dem auf Abb. 1 vergleicht, dann erkennt man deutlich die Größenabnahme und außerdem das Auftreten von ähnlichen vorübergehenden Verminderungen von Deviation und Nystagmus wie direkt nach der ersten Einspritzung. Nach der zweiten Chenopodiumeinspritzung (0,07 ccm pro kg)

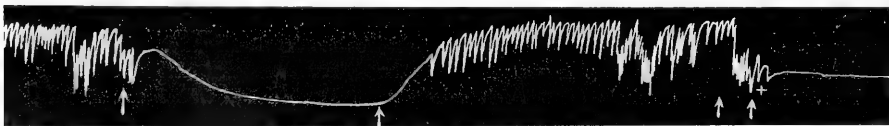


Abb. 3.

zwischen den 2 Pfeilen entsteht eine noch stärkere vorübergehende Abnahme der Deviation als nach der ersten Einspritzung. Die schnelle Phase des Nystagmus bleibt hierauf kleiner und langsamer.

Abb. 3 zeigt das Endstadium des Versuches. Der Nystagmus ist am Anfang der Abbildung bereits sehr unregelmäßig. Bei dem ersten Pfeil wird die dauernde

Ausspritzung des Ohres unterbrochen. Man erkennt deutlich, wie lebhaft die Deviation gewesen war, die Kurve geht langsam nach unten, der Nystagmus hört sofort auf.

Beim zweiten Pfeil wird von neuem Wasser von 10° C in den linken Gehörgang gespritzt. Sofort tritt wieder starke kalorische Deviation mit langsamem Nystagmus auf. Zwischen den 2 letzten Pfeilen wird die fünfte *Chenopodium*dosis gegeben, unmittelbar darauf ist das Tier tot. Man erkennt also, daß die kalorische Deviation und der Nystagmus bis zum Tode nachweisbar bleiben.

Dieser Versuch wurde mehrmals mit dem gleichen Ergebnis wiederholt. Ebenso wie in der ersten Versuchsreihe die Augendrehreaktionen, *so bleiben hier die kalorischen Reflexe auf die Augenmuskeln während der Chenopodiumvergiftung bis zum Tode erhalten.*

Eigenartig ist die im Verlauf der Vergiftung auftretende rhythmische Verminderung der Deviation, die sich darauf stets wieder vollständig herstellt. Die schnelle Phase des Nystagmus wird stärker beeinflußt als die Deviation. Bereits nach der ersten Einspritzung ist der Nystagmus kleiner und langsamer als vorher und wird später unregelmäßig. Aber auch die schnelle Phase des Nystagmus bleibt bis zum Tode vorhanden.

### 3. Einfluß von *Chenopodium*öl auf die tonischen Labyrinthreflexe auf die Extremitäten bei decerebrierten Katzen.

Als Beispiel von 4 übereinstimmenden Versuchen soll das folgende Protokoll gegeben werden:

Versuch 3. 14. X. 1919. Kaninchen 1,5 kg.

9<sup>h</sup> 30'. Äthernarkose, Trachealkanüle. Künstliche Atmung. Durchschneidung der Vagi. Abbindung der Carotiden. Decerebrieren in der Ebene des Tentorium cerebelli.

10<sup>h</sup>. Ende der Operation. Narkose beendet. Das Tier liegt auf dem erwärmten Operationstisch.

11<sup>h</sup>. Sehr gute Enthirnungsstarre. Tonische Labyrinth- und Halsreflexe sehr deutlich vorhanden. Kopfdrehreaktion gut auszulösen. Corneareflex und Patellarreflex lebhaft.

11<sup>h</sup> 20'. Intravenös 0,07 ccm pro kg Ol. *chenopodium* in 5% Emulsion.

11<sup>h</sup> 25'. Tonische Labyrinth- und Halsreflexe nunmehr außerordentlich lebhaft, ebenfalls die Kopfdrehreaktion.

11<sup>h</sup> 35'. Nochmals 0,07 ccm Ol. *chenopodii*.

11<sup>h</sup> 40'. Die tonischen Labyrinth- und Halsreflexe auf die Extremitäten sind sowohl beim Umlegen aus Bauch- in Rückenlage wie beim Kopfdrehen in Seitenlage nur noch schwach fühlbar. Die Kopfdrehreaktion ist dagegen noch sehr lebhaft.

Die Enthirnungsstarre des Tieres ist noch gut, der Patellarreflex und Beuge-reflex auf Kneifen der Zehen lebhaft. Das Tier reagiert stark auf sensible Reize. Beim Kneifen in das Ohr treten kräftige Streck- und Beugebewegungen der Beine auf.

12<sup>h</sup>. Tonische Hals- und Labyrinthreflexe nur noch schwach nachweisbar. Kopfdrehreaktion dagegen deutlich.

12<sup>h</sup> 15'. Nochmals 0,07 ccm Ol. *chenopodii* pro kg intravenös.

12<sup>h</sup> 20'. Tonische Labyrinthreflexe auf die Extremitäten nicht mehr zu fühlen. Kopfdrehreaktion dagegen deutlich vorhanden.

12<sup>h</sup> 35'. *Die tonischen Labyrinthreflexe auf die Extremitäten sind sowohl beim Umlegen aus Bauch- in Rückenlage wie beim Kopfdrehen in Seitenlage vollständig*

verschwunden. Auch die tonischen Halsreflexe auf die Extremitäten sind nicht mehr auszulösen. Die Kopfdrehreaktionen sind dagegen noch sehr deutlich vorhanden. Der Allgemeinzustand, die Reflexe und der Tonus sind gerade so wie 11<sup>h</sup> 40'.

2<sup>h</sup>. Tonische Hals- und Labyrinthreflexe verschwunden. Kopfdrehreaktion läßt sich nur noch beim schnellen Drehen des Tieres auslösen.

Das Herz schlägt schwach und unregelmäßig. Getötet.

Sektion: Der Enthirnungsschnitt geht durch die vorderen Corpora quadrigemina. Medulla oblongata intakt. Keine weiteren Abweichungen.

Die sämtlichen Versuche dieser Versuchsreihe zeigten übereinstimmend, daß bei der Chenopodiumvergiftung die tonischen Labyrinthreflexe auf die Extremitäten viel früher verschwinden als die Bogengangsreaktionen (in diesem Falle die Kopfdrehreaktion), was mit dem Ergebnis der ersten Versuchsreihe übereinstimmt.

#### 4. Wirkung von Chenopodium auf die Folgezustände der einseitigen Labyrinthextirpation bei Kaninchen und Meerschweinchen.

Von den Symptomen, welche nach einseitiger Labyrinthextirpation auftreten, ist nach der eingehenden Analyse von Magnus und de Kleyn<sup>1)</sup> nur ein Teil als direkte Labyrinthausfallsfolge aufzufassen, während andere Symptome sekundärer Natur und teilweise Halsreflexe sind, welche infolge der Kopfdrehung ausgelöst werden. Als direkte Labyrinthausfallsfolgen sind bei Kaninchen und Meerschweinchen zu betrachten die Augendeviation, die Drehung (und Wendung) des Kopfes nach der Seite des fehlenden Labyrinthes und beim Kaninchen außerdem ein Teil der Rumpfdrehung, und zwar beruhen diese auf der einseitigen Wirkung der von dem intakten Labyrinth ausgehenden Otolithenreflexe. Nun hatten die in dem vorigen Abschnitt beschriebenen Versuche ergeben, daß man durch Chenopodium die Otolithenreflexe lähmen kann, während die Bogengangsreflexe bestehen bleiben. Es war daher zu erwarten, daß man durch Chenopodium die Folgezustände der einseitigen Labyrinthextirpation beseitigen kann, zu einer Zeit, wo die Bogengangsreflexe noch erhalten sind. Versuche an Kaninchen und Meerschweinchen nach einseitiger Labyrinthextirpation ergaben, daß dieses tatsächlich der Fall ist.

Bei Kaninchen wurde mehr als 8 Tage vorher die einseitige Labyrinthextirpation ausgeführt, so daß die akuten Folgen der Extirpation (Rollbewegungen, Kopf- und Augennystagmus) abgeklungen waren, während Kopfdrehung und -wendung, Rumpfdrehung, gleichseitiger Tonusverlust der Extremitäten und Augendeviation stark entwickelt und die Tiere im übrigen vollständig gesund waren.

Bei Meerschweinchen wurden die Folgen der einseitigen Labyrinthextirpation dadurch hervorgerufen, daß einige Wochen vorher Chloroform in den Gehörgang eingeträufelt wurde. Hiernach traten Kopfdrehung und -wendung, Rumpfdrehung, gleichseitiger Tonusverlust der Extremitäten und Deviation der Augen auf. Die Chenopodiumvergiftung wurde durch subcutane Einspritzung von 0,4 ccm pro kg *Ol. chenopodii* hervorgerufen.

<sup>1)</sup> Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **159**, 157. 1914.

Das Ergebnis der Versuche am Kaninchen wird durch Abb. 4 verdeutlicht.

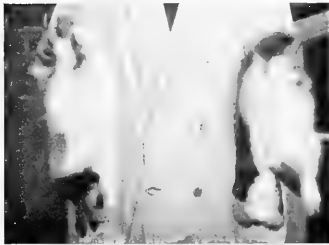
Kaninchen 1,5 kg und ein Kontrollkaninchen. Das Versuchstier wird in der rechten, das Kontrolltier in der linken Hand gehalten. Bei beiden Tieren war am 17. X. 1919 das rechte Labyrinth durch Dr. *de Kleyn* exstirpiert. Sie bekamen



a)



b)



c)

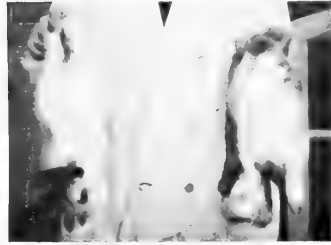


Abb. 4 a—c.

danach ganz gleich starke Symptome, von denen die Rollbewegungen, Kopf- und Augennystagmus schnell vorübergingen, während Kopfdrehung und -wendung, Rumpfdrehung, Tonusverlust der gleichseitigen Extremitäten und Augendeiation sehr deutlich waren und bestehen blieben.

Am 22. X. bekam das Versuchstier um 1<sup>h</sup> 34' 0,4 ccm Ol. chenopodium pro kg subcutan. Danach traten wieder heftige Reizerscheinungen: Rollbewegungen, Kopf- und Augennystagmus auf. Um 3<sup>h</sup> 15' wurde noch 0,04 ccm pro kg intravenös eingespritzt.

Um 3<sup>h</sup> 45' (Abb. 4a) wird die Kopfdrehung des injizierten Tieres, welches in

der rechten Hand gehalten wird, bei Hängelage mit Kopf unten deutlich geringer. (Kopfdrehung wechselnd zwischen  $70^\circ$  und  $45^\circ$ .)

Um  $4^h 15'$  wurde Abb. 4b aufgenommen, die Kopfdrehung hat weiter abgenommen (etwa  $30^\circ$ ).

Um  $4^h 45'$  wurde Photo 4c aufgenommen. Der Kopf steht nunmehr so gut wie gerade. Das Kontrolltier zeigt dagegen die unveränderte Drehung.

Die Augenabweichung ist zu dieser Zeit ebenfalls fast ganz zurückgegangen. Die Otolithenreflexe von dem intakten Labyrinth sind aufgehoben bzw. minimal.

Dagegen sind die Drehreaktionen und Nachreaktionen auf Kopf und Augen und die Liftreaktion noch sehr lebhaft, die übrigen Reflexe auf Progressivbewegungen deutlich nachzuweisen. Krämpfe sind in diesem Stadium noch nicht aufgetreten.

Man sieht also aus diesen Abbildungen, wie Kopfdrehung und -wendung nach einseitiger Labyrinthexstirpation nach Einspritzung von Oleum Chenopodii langsam aufgehoben werden.

Noch deutlicher glückt dieser Versuch beim Meerschweinchen:

*Versuch 5.* 23. X. 1919. (Vgl. Abb. 5.)

3 Meerschweinchen im Gewichte von 275—310 g.

3 Wochen vor dem Versuche waren bei diesen Tieren durch Chloroformeinträufelung in einen Gehörgang die Symptome der einseitigen Labyrinthausschaltung hervorgerufen. Die Tiere zeigen jetzt kein Rollen und keinen Nystagmus an Kopf und Augen mehr, dagegen noch deutlich bleibende Symptome: Kopfdrehung und -wendung, Rumpfdrehung, Tonusverlust der gleichseitigen Extremitäten und Augendeviation.

$1^h$ . Subcutane Einspritzung von 0,4 ccm pro kg Oleum chenopodii.

$1^h 30'$ . Direkt nach der Einspritzung und auch jetzt noch fortdauernde Rollbewegungen, Nystagmus von Kopf und Augen.

Von den Erscheinungen nach einseitiger Labyrinthexstirpation haben Kopfdrehung und -wendung bei Hängelage Kopf unten bereits deutlich abgenommen. Die Drehreaktionen und die Reflexe auf Progressivbewegungen sind alle sehr lebhaft.

$2^h$ . Die Tiere sitzen, Kopf und Rumpf sind wenig gedreht und gewendet nach der Seite der Operation. Bei Annäherung laufen die Tiere noch weg.

Bei Hängelage Kopf unten ist keine Kopfdrehung und -wendung mehr nachzuweisen, der Kopf hängt gerade nach unten. (Abb. 5 zeigt eines dieser Tiere in diesem Stadium im Vergleich mit einem normalen Kontrolltier, welches kein Chenopodium erhalten hat und daher die Erscheinungen der einseitigen Labyrinthexstirpation noch unverändert zeigt.)

Die Rumpfdrehung fehlt gleichfalls, ebenso der Tonusunterschied der Extremitäten. Die Deviation beider Augen fehlt bzw. ist minimal.

Kopf- und Augendrehereaktionen und die Reflexe auf Progressivbewegung sind noch deutlich vorhanden.

Abb. 5. 2 Meerschweinchen, bei welchen vor 3 Wochen durch Einträufeln von Chloroform in den linken Gehörgang das Labyrinth ausgeschaltet worden ist. Das Meerschweinchen in der rechten Hand ist das Kontrolltier, welches kein Chenopodium erhalten hat, das Meerschweinchen in der linken Hand erhielt um  $1^h 0,4$  ccm pro kg Chenopodiumöl subcutan. Eine Stunde nach der Einspritzung wurde die Photographie aufgenommen. Kopfdrehung und -wendung sind bei dem injizierten Tier in der linken Hand vollständig verschwunden. Das Tier läuft noch gut und führt keine Manegebewegungen mehr aus, wie vor der Einspritzung.

$2^h 30'$ . Die Tiere sitzen zusammengekauert auf dem Boden. Die Haare sind gestäubt; beim Sitzen ist der Kopf noch minimal nach der Seite des fehlenden Labyrinthes gedreht und gewendet. Das Verhalten der Labyrinthreflexe und der Folgezustände der einseitigen Labyrinthexstirpation sind wie um  $2^h$ .

3<sup>h</sup>. Beim Sitzen steht der Kopf vollständig gerade, das Tier verträgt Seitenlage auf dem Tische. Sowohl in rechter wie in linker Seitenlage bleibt es einige



Abb. 5.

Zeit liegen. Hierbei macht es dauernde Laufbewegungen mit den 4 Extremitäten. Diese Laufbewegungen lassen sich durch Drehen auf der Drehscheibe stark beeinflussen, indem sie entweder aufhören oder beträchtlich verstärkt werden.

Bei Hängelage mit Kopf unten ist keine Kopfdrehung und -wendung mehr zu sehen. *Die sämtlichen Folgezustände der einseitigen Labyrinthexstirpation sind jetzt geschwunden, ebenso alle Otolithenreflexe von dem intakten Labyrinth, dagegen sind die Drehreaktionen und die Reaktionen auf Progressivbewegungen noch deutlich vorhanden.*

In diesem Zustande blieben die Tiere ungefähr 3 Stunden lang, erst darauf traten allgemeine Krampfanfälle mit Atemstillstand auf. Selbst hiernach kehrten die Bogengangsreflexe (Kopf- und Augendrehreaktion und Liftreaktion) wieder deutlich zurück, während keine Otolithenreflexe und keine Folgezustände der einseitigen Labyrinthexstirpation mehr wahrzunehmen waren. Dieser Zustand blieb bis zum Tode (7<sup>h</sup> abends) bestehen.

Diese Versuche lehren, daß bei Kaninchen und noch deutlicher bei Meerschweinchen durch subcutane Einspritzung von 0,4 ccm pro kg Chenopodiumöl *die Folgezustände einseitiger Labyrinthexstirpation sich bereits in einem frühen Vergiftungsstadium* (2 Stunden nach der Einspritzung) *aufheben lassen*, ebenso wie die Otolithenreflexe, während die Bogengangsreflexe noch 5–6 Stunden nach der Einspritzung erhalten bleiben. Die Tiere können noch auf ihren Pfoten stehen und bei Annäherung Fluchtbewegungen machen, während Kopfdrehung und -wendung bei Hängelage-Kopf-unten nicht mehr vorhanden sind.

In der ersten halben Stunde nach der Einspritzung ließen sich deutliche Reizerscheinungen (Rollbewegungen, Nystagmus usw.) wahrnehmen.

#### *Zusammenfassung.*

*Das Hauptergebnis dieser Untersuchung ist, daß sich nach intravenösen und subcutanen Einspritzungen von Chenopodiumöl stets ein Vergiftungsstadium feststellen läßt, in welchem alle Otolithenreflexe vollständig aufgehoben sind, während die Bogengangsreaktionen erhalten bzw. verstärkt sind.*

Im einzelnen ließ sich folgendes feststellen:

1. Direkt nach der Chenopodiumeinspritzung ist meistens eine Erregung der Labyrinthreflexe nachzuweisen. Diese ist am stärksten ausgesprochen bei den Bogengangsreaktionen und den Folgezuständen einseitiger Labyrinthexstirpation.

2. Die Bogengangsreaktionen auf Bewegung und auf kalorische Reizung werden im Verlaufe der Chenopodiumvergiftung höchstens vorübergehend (während der Krampfanfälle) aufgehoben und bleiben bis zum Tode nachweisbar. In den letzten Stadien der Vergiftung sind sie sogar meistens sehr lebhaft.

3. Die Otolithenreaktionen nebst den Folgezuständen einseitiger Labyrinthexstirpation werden bereits (vor allem beim Meerschweinchen) in einem frühen Vergiftungsstadium gelähmt.

4. Unter den Otolithenreflexen werden die Labyrinthstellreflexe und die tonischen Labyrinthreflexe auf die Extremitäten zuerst gelähmt, erst danach die kompensatorischen Augenstellungen.

5. Die Labyrinthstellreflexe auf den Kopf werden früher gelähmt als die Halsstellreflexe und als die Körperstellreflexe auf Kopf und Körper.

6. Bei der decerebrierten Katze werden die tonischen Labyrinthreflexe auf die Extremitäten früher gelähmt als die Kopfdrehreaktionen.

7. Beim Kaninchen glückte es, die Dauerfolgen der einseitigen Labyrinthexstirpation (Augendeviation, Kopfdrehung und -wendung) zum Verschwinden zu bringen, während die Bogengangsreaktionen noch erhalten waren. Sehr schön läßt sich dabei verfolgen, wie die Kopfdrehung und -wendung bei zunehmender Vergiftung langsam abnimmt, um schließlich ganz zu verschwinden. Beim Meerschweinchen lassen sich die Folgen einseitiger Labyrinthausschaltung (nach Chloroformeinträufelung in den Gehörgang) noch schneller zum Verschwinden bringen als beim Kaninchen.

8. In den späteren Vergiftungsstadien bekommen Kopf- und Augendrehreaktionen und Liftreaktionen den Charakter von Krämpfen der beteiligten Muskeln, so daß die Reaktionen maximal und längerdauernd werden als in der Norm.

9. Kopf- und Augendrehnystagmus sind meistens bis zum Tode vorhanden, werden jedoch klein und unregelmäßig.

10. Die Liftreaktionen nehmen nach der anfänglichen Steigerung langsam ab und sind gelegentlich vorübergehend nicht mehr auszulösen. In den letzten Stadien werden sie aber stets maximal krampfartig.

11. Bei der graphischen Registrierung der kalorischen Labyrinthreflexe auf die Augenmuskeln folgt bereits nach der ersten Einspritzung kleiner Dosen eine vorübergehende Abnahme der Deviation und des Nystagmus. Die Deviation kehrt hierauf wieder zurück und zeigt nur in ziemlich regelmäßigen Abständen vorübergehende Abnahme. Die Deviation ist selbst im letzten Vergiftungsstadium noch maximal vorhanden. Dagegen wird der Nystagmus stärker beeinflusst, er erholt sich nach der ersten Abnahme nicht vollständig, sondern bleibt kleiner, langsamer und unregelmäßiger als in der Normalperiode. Aber auch der Nystagmus ist bis zum Tode vorhanden.





## Beiträge zur allgemeinen Zellphysiologie.

### Studien über die Quellbarkeit von Muskeln und ihre Permeabilität unter verschiedenen Bedingungen.

Von

Emil Abderhalden und Ernst Gellhorn.

(Aus dem Physiologischen Institute der Universität Halle a. S.)

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. Juli 1922).

Für unsere ganzen Vorstellungen der einzelnen Vorgänge in den Zellen und vor allem auch in ihren Grenzschichten, angefangen bei Problemen über die Aufnahme und die Ausscheidung von Stoffen bis zu allen jenen Fragestellungen, die sich mit den im Inneren der einzelnen Zellen vor sich gehenden, mannigfaltigen Prozessen — seien sie nun allgemeiner zellspezifischer oder funktionsspezifischer Natur — beschäftigen, ist die Erkenntnis des Zustandes, in dem die einzelnen Zellinhaltsstoffe zugegen sind, von grundlegender Bedeutung. Die morphologische Einheit Zelle ist ohne Zweifel von physikalisch-chemischen Gesichtspunkten und von solchen biologischer Art weit davon entfernt, eine solche zu sein. Die Unterscheidung einer Zellgrenzschicht von dem Zellinneren ist ein erster Schritt zu einer Aufteilung der Zelle in biologische bzw. physikalisch-chemische Einheiten, die jedoch allesamt nicht isoliert für sich denkbar sind, weil jeder einzelne der anwesenden Stoffe in seinem Zustand und damit in seinen Eigenschaften in Abhängigkeit von anderen Produkten ist. Unendlich erschwert wird das Studium in der angedeuteten Richtung durch den Umstand, daß in der lebenden Zelle in nicht aufhörendem Wechselspiel ein fortwährendes Einstellen des einen Zustandes auf einen anderen vor sich geht. Es wird ein Gleichgewicht der Zustände und der Kräfte angestrebt, jedoch nicht erreicht, weil fortwährend Stoffwechselvorgänge sich vollziehen.

Wie unendlich schwierig die klare Deutung von Versuchsergebnissen ist, zeigt in neuester Zeit die Erforschung des Wesens der Narikose, der Muskelkontraktion und in besonders drastischer Weise die widersprechenden Antworten auf die an sich einfache Frage, ob rote

Blutkörperchen für Glucose durchlässig sind oder nicht. Sie wird bald bejaht, bald verneint. Die Beobachtung, daß Traubenzucker von roten Blutkörperchen aufgenommen wird, wird so gedeutet, daß diese Zellen die geringste Veränderung der Bedingungen, unter denen sie sich befinden, mit einer Veränderung im Zustand der Zellgrenzschicht beantworten. Wie leicht die Durchlässigkeit von Zellen verändert werden kann, haben vor allen Dingen die bekannten Versuche von *Hamburger* und *Brinkmann* bewiesen. Glomerulusepithel kann durch Änderungen in der Zusammensetzung der Durchspülungsflüssigkeit bald für Zucker gedichtet, bald weniger dicht gemacht werden<sup>1)</sup>. Derartige Erfahrungen sind von grundlegender Bedeutung und mahnen zur Vorsicht bei der Übertragung von unter bestimmten Bedingungen gemachten Beobachtungen auf Zellvorgänge unter normalen Verhältnissen.

Man wird vor allen Dingen dem folgenden Punkte die volle Aufmerksamkeit widmen müssen. Wird ein Stoff aus einer Lösung von Zellen oder Organen aufgenommen, dann ist damit noch lange nicht bewiesen, daß er die Zellgrenzschicht durchdrungen hat und nun ein Zellinhaltsstoff ist. Es besteht die Möglichkeit, daß ein Stoff durch Adsorption der Flüssigkeit entzogen wird, in der die Zellen oder das Organ sich befinden. In einem anderen Falle wird der betreffende Stoff die Zellgrenzschicht wirklich durchwandern und nunmehr mit Teil an dem osmotischen Drucke haben, wenn er nicht, was auch noch möglich ist, durch chemische oder physikalisch-chemische Bindung (beide Möglichkeiten sind im Grunde genommen wahrscheinlich identisch) von einem Zellinhaltsstoff festgelegt wird.

Für die Folgen, die die Aufnahme eines Stoffes bewirkt, ist es natürlich von wesentlichster Bedeutung, in welcher Form und vor allem in welchem Zustand er in der Zelle zugegen ist. Man darf unter keinen Umständen einzig und allein aus der Abnahme des Gehaltes einer Lösung, in der Zellen vorhanden sind, an einem bestimmten Stoff Schlüsse auf eine mehr oder weniger große Permeabilität der Zellgrenzschicht ziehen. Es muß mittels besonderer Methoden und Beobachtungen festgestellt werden, ob dieser wirklich in das Zellinnere gelangt ist.

Die Zahl der Fragestellungen auf diesem Gebiete ist unübersehbar groß. Es interessiert das Aufnahmevermögen von Zellen und Geweben für Wasser und gelöste Stoffe unter den verschiedensten Bedingungen, seien diese nun künstlich durch Verwendung bestimmter Lösungen von Substanzen erzeugt, oder aber sei der physiologische Zustand der zu untersuchenden Zellen ein verschiedener. So kann man Muskeln

<sup>1)</sup> Vgl. die Literatur: *Emil Abderhalden*, Lehrbuch der physiol. Chemie, 5. Aufl. Vorlesung VII. 1922.

in frischem, unermüdeten Zustand unter genau den gleichen äußeren Bedingungen mit solchen verglichen, die man ermüdet hat. Man kann den Zustand des Elektrotonus herausgreifen und seinen Besonderheiten nachgehen.

Wir haben als Versuchsobjekt den Muskel gewählt, weil bei ihm leicht feststellbar ist, ob er noch „lebt“. Seine Fähigkeit, auf Reize durch Kontraktion zu antworten, gibt uns ein leicht zu übersehendes Mittel in die Hand, um Änderungen im Funktionszustand auch quantitativ zu messen. Wir können z. B. vor und nach dem Versuch prüfen, ob der gleiche Reiz den gleichen Erfolg hat. Vor allem können wir auch eine Wiederkehr der Funktion feststellen.

Unsere Versuche umfassen zunächst die folgenden Fragestellungen: 1. *Wie ändert sich das Gewicht von quergestreiften Muskeln in Lösungen von Calciumchlorid unter verschiedenen Bedingungen?* 2. *Wie verhält sich die Aufnahme von Calcium durch quergestreifte Muskulatur unter verschiedenen Bedingungen?*

Die unten mitgeteilten Versuchsergebnisse geben die Antwort auf diese Fragen. Als unsere Versuche, die durch zahlreiche Voruntersuchungen und Kontrollen aller Art sehr viel Zeit beanspruchten, bereits im Gange waren, erschienen aus dem Physiologischen Institute der Universität Frankfurt [*Embden*<sup>1)</sup>] eine Reihe von Untersuchungen mit ganz ähnlichen Problemen. Sie sind in Zusammenhang mit unseren Versuchsergebnissen berücksichtigt.

### *I. Über die Änderung des Gewichtes der quergestreiften Muskulatur in Lösungen von $\text{CaCl}_2$ unter verschiedenen Bedingungen.*

Der Einfluß von  $\text{CaCl}_2$  auf das Gewicht des quergestreiften Muskels ist in seinen Grundzügen bereits durch die Untersuchungen von *Overton*<sup>2)</sup> bekannt. Insbesondere hatte schon *Overton* beobachtet, daß der Sartorius des Frosches in isotonischer  $\text{CaCl}_2$ -Lösung irreversibel schrumpft, während in Gemischen von  $\text{NaCl}$  und  $\text{CaCl}_2$ , die einer 0,7 proz.  $\text{NaCl}$ -Lösung isotonisch sind und nicht mehr als 0,2%  $\text{CaCl}_2$  enthalten, Muskelgewicht und Erregbarkeit längere Zeit hindurch keine wesentliche Änderung erfahren, so daß für geringere Konzentrationen von  $\text{CaCl}_2$  Impermeabilität des Muskels bestehen müsse. Ebenso konnte dieser Autor die starke Gewichtsabnahme in Rohzucker- und  $\text{CaCl}_2$ -Gemischen, die mit einer starken Schrumpfung der Muskulatur verbunden ist, feststellen. Wir haben nun diese Versuche wiederholt und in verschiedener Richtung ergänzt. Es kam uns nämlich darauf an, die durch

<sup>1)</sup> *Gustav Embden* und *Erich Adler*, Zeitschr. f. physiol. Chemie **118**, 1. 1922. — *Hans Vogel*, ebenda **118**, 50. 1922. — *Max Simon*, ebenda **118**, 96. 1922. — *Hans Berendt*, ebenda **118**, 123. 1922.

<sup>2)</sup> *Overton*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **105**, 176. 1904.

gewichtsanalytische Versuche angenommene Permeabilität noch durch die direkte Bestimmung der Ca-Aufnahme zu sichern. In späteren Mitteilungen soll auch die Aufnahme der übrigen Kationen und Anionen ermittelt und unter verschiedenen Bedingungen studiert werden.

Zu unseren Versuchen verwendeten wir  $\text{CaCl}_2$  (siccum!) in 0,2 bis 0,4 proz. Lösung. Die Isotonie mit 0,7 proz. NaCl-Lösung wird durch Hinzufügung von Kochsalz, Magnesiumchlorid oder Rohrzucker erreicht. Zunächst seien die Veränderungen des Gewichtes des *M. gastrocnemius* des Frosches in diesen Lösungen besprochen sowie die Quellung des Muskels in isotonischer Kochsalzlösung, wenn vorher eine bestimmte Zeit (16–24 Stunden) die oben erwähnten Calciumgemische eingewirkt hatten. Gleichzeitig wird auch die Änderung der Erregbarkeit, die am Sartorius und am Gastrocnemius durch Feststellung der Öffnungsschwelle gemessen wurde, zu besprechen sein.

Aus Abb. 1, der ein Versuch zugrunde liegt, in dem  $\text{CaCl}_2$ - in 0,2 proz. Lösung in Verbindung mit NaCl,  $\text{MgCl}_2$  bzw. Rohrzucker auf den *M. gastrocnemius* von *Rana esculenta* einwirkten, ist der bereits von *Overton* erwähnte Unterschied zwischen Rohrzucker +  $\text{CaCl}_2$  und NaCl +  $\text{CaCl}_2$  sehr ausgesprochen. Der Gewichtsverlust ist in dem Rohrzuckergemisch bedeutend stärker, setzt aber erst nach einer anfänglichen Gewichtszunahme ein, die jedoch keine typische Wirkung darstellt, da sie sehr häufig fehlt. Ganz anders verhält sich aber die Gewichtskurve in  $\text{MgCl}_2$  +  $\text{CaCl}_2$ . Hier wird eine ganz erhebliche Gewichtszunahme beobachtet. Erst nach etwa 24 Stunden sinkt die Gewichtskurve ein wenig, bleibt jedoch noch weit über dem Anfangsgewicht. In einer ganzen Reihe weiterer Versuche, auf deren ausführliche Wiedergabe aus räumlichen Gründen verzichtet werden muß, konnte in 0,2–0,3 proz.  $\text{CaCl}_2$ -Lösungen, denen zur Herstellung der Isotonie  $\text{MgCl}_2$  hinzugefügt ist, stets eine bedeutende Gewichtszunahme festgestellt werden, ja vielfach kommt die später einsetzende geringe Gewichtsabnahme, die aus der Kurve der Abb. 1 ersichtlich ist, nicht zur Beobachtung, vielmehr findet eine kontinuierliche Gewichtszunahme des Muskels in  $\text{MgCl}_2$  +  $\text{CaCl}_2$  auch bei 24–48 stündigem Verweilen des Muskels statt.

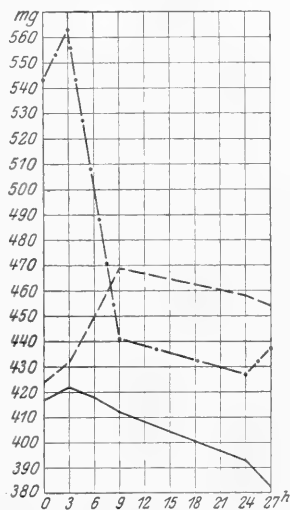


Abb. 1. *M. gastrocnemius* von *Rana esculenta*. Das Verhalten des Muskelgewichtes in

NaCl 5,5	}	————
CaCl <sub>2</sub> 2,0		
Aq. dest. 1000,0		
MgCl <sub>2</sub> 14,0	}	-----
CaCl <sub>2</sub> 2,0		
Aq. dest. 1000,0		
Rohrzucker 47,0	}	- · - · -
CaCl <sub>2</sub> 2,0		
Aq. dest. 1000,0		

Verwendet man  $\text{CaCl}_2$  in stärkerer Konzentration (0,4%), so ist die Gewichtsabnahme des Muskels in  $\text{NaCl} + \text{CaCl}_2$  und Rohrzucker +  $\text{CaCl}_2$  bedeutender; das relative Verhältnis der Muskelgewichtskurven bleibt aber in beiden Fällen dasselbe. Interessant ist, daß gelegentlich wie z. B. in Abb. 2 in den ersten Stunden in  $\text{NaCl} + \text{CaCl}_2$  trotz der hohen Konzentration des Calciums eine geringe Gewichtszunahme beobachtet wird. Abb. 3 gibt die entsprechenden Verhältnisse in  $\text{MgCl}_2 + \text{CaCl}_2$  wieder, während

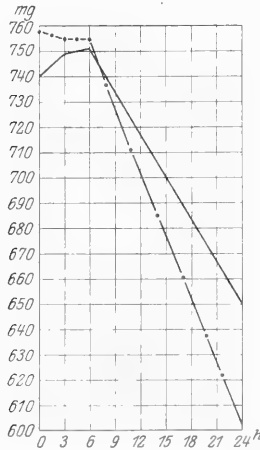


Abb. 2. *M. gastrocnemius* von *Rana esculenta*. Das Verhalten des Muskelgewichtes in  
 $\text{NaCl}$  4,0 } — Rohrz. 84,0  
 $\text{CaCl}_2$  4,0 } —  $\text{CaCl}_2$  4,0  
 Aq. dest. 1000,0 } Aq. dest. 1000,0 } — — —

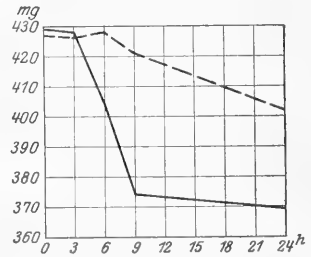


Abb. 3. *M. gastrocnemius* von *Rana esculenta*. Das Verhalten des Muskelgewichtes in  
 $\text{NaCl}$  4,0 } —  $\text{MgCl}_2$  10,2  
 $\text{CaCl}_2$  4,0 } —  $\text{CaCl}_2$  4,0  
 Aq. dest. 1000,0 } Aq. dest. 1000,0 } — — —

$\text{NaCl} + \text{CaCl}_2$  als Kontrollflüssigkeit dient. Hier zeigt sich, daß, nachdem anfangs das Muskelgewicht fast unverändert geblieben ist, allmählich eine Gewichtsabnahme einsetzt, die jedoch bedeutend geringer als in  $\text{NaCl} + \text{CaCl}_2$  ist. Es darf jedoch nicht unerwähnt bleiben, daß zuweilen auch nach 24stündiger Einwirkung von  $\text{MgCl}_2 + \text{CaCl}_2$  (wenn  $\text{CaCl}_2$  in 0,4 proz. Lösung vorhanden ist), eine geringe Gewichtszunahme vorkommt. Wir sehen also, daß die Gewichtsabnahme in Rohrzucker- $\text{CaCl}_2$ -Gemischen am stärksten, in  $\text{MgCl}_2 + \text{CaCl}_2$  am schwächsten ist, und daß in dieser Beziehung  $\text{NaCl} + \text{CaCl}_2$  eine Mittelstellung einnimmt. Da die entquellende Wirkung des Calciums uns durch zahlreiche Untersuchungen bekannt ist — wir erwähnen nur die Untersuchungen *M. H. Fischers*<sup>1)</sup>, der zeigen konnte, daß  $\text{CaCl}_2$  die Quellung des Froschmuskels in Säure stärker hemmt als  $\text{NaCl}$ , sowie die analogen Untersuchungen von *Bottazzi* und *Scalinzi*<sup>2)</sup> über die Quellung der Linse, endlich auch die Versuche von *Widmark*<sup>3)</sup>, der in vergleichend physiologischen Unter-

<sup>1)</sup> *M. H. Fischer*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **124**, 69. 1908.

<sup>2)</sup> *Botazzi* und *Scalinzi*, Arch. di fisiol. **19**, 162. 1910. zitiert nach Handbuch der vergleich. Physiol. **1**, 432.

<sup>3)</sup> *Widmark*, Skandinav. Arch. f. Physiol. **24**, 339. 1911; *Widmark* und *Lindahl*, ebenda **41**, 221. 1921.

suchungen für die zerschnittene Muskulatur verschiedener Tierarten die Gewichtsabnahme in  $\text{CaCl}_2$ -Lösungen feststellte — so ergibt sich aus unseren Versuchen der Schluß, daß  $\text{Mg}$  stärker als  $\text{Na}$  antagonistisch gegenüber Calcium wirksam ist, so daß bei Verwendung von  $\text{CaCl}_2$  in 0,2 proz. Lösung die Gesamtwirkung von  $\text{MgCl}_2 + \text{CaCl}_2$  in einer Quellung und von  $\text{NaCl} + \text{CaCl}_2$  in einer mäßigen Entquellung sich kundtut, daß aber die stärkste Calciumwirkung (Entquellung) in Gegenwart von Rohrzucker bei Fehlen anderer Neutralsalze vorhanden ist. Wird hingegen  $\text{CaCl}_2$  in stärkerer, z. B. 0,4 proz. Lösung angewendet, so ergibt sich die gleiche Reihenfolge, wenn wir die Gewichtskurven nach dem Grade der Entquellung ordnen, nur ist diese im ganzen stärker und führt meistens auch in  $\text{MgCl}_2 + \text{CaCl}_2$  zu einer, wenn auch relativ geringen Gewichtsabnahme. Auf welche Weise die bedeutenden Unterschiede der Calciumwirkung bei Gegenwart von Natrium einerseits, von Rohrzucker andererseits zustande kommen, werden wir später bei Besprechung der analytischen Versuche über die  $\text{Ca}$ -Aufnahme durch den Muskel erörtern.

Es fragt sich nunmehr, wie die Erregbarkeit des Froschmuskels sich in den verschiedenen Lösungen verhält, deren typischer Einfluß auf die Gewichtskurve bisher erörtert wurde. Der Einfluß von Rohrzucker und von Neutralsalzen auf die Erregbarkeit des Froschmuskels ist mehrfach Gegenstand von Untersuchungen gewesen [*Overton*<sup>1)</sup>, *Hoerber*<sup>2)</sup>]. Aus ihnen geht hervor, daß in Rohrzuckerlösungen die Erregbarkeit innerhalb weniger Stunden erlischt, aber durch Übertragung in Salzlösungen wiederhergestellt werden kann. Hierfür erweist sich innerhalb der Alkalireihe  $\text{Na}$  am günstigsten — auch hier gilt wieder die bekannte Kationenreihe  $\text{Na} < \text{Li} < \text{Cs} < \text{NH}_4 < \text{Rb} < \text{K}$  — aber auch die Übertragung in  $\text{CaCl}_2$ - und  $\text{MgCl}_2$ -Lösungen vermag die Erregbarkeit bis zu einem gewissen Grade wiederherzustellen. In Bestätigung der Versuche *Overtons* konnten auch wir feststellen, daß die Erregbarkeit in Rohrzucker +  $\text{CaCl}_2$ -Lösungen ( $\text{CaCl}_2$  in 0,2%) im allgemeinen innerhalb weniger Stunden stark herabgesetzt wird, während sie in  $\text{NaCl} + \text{CaCl}_2$  häufig längere Zeit hindurch keine Abnahme zeigte. Auch in  $\text{CaCl}_2 + \text{MgCl}_2$ -Gemischen bleibt die Erregbarkeit der Muskeln sehr lange erhalten. Dabei ist die Erregbarkeitskurve, wenn wir als Ordinate den Rollenabstand für die Öffnungsschwelle und als Abszisse die Zeit wählen, durchaus typisch. Wie aus den Abb. 4 und 5 hervorgeht, in denen die Schwellenwerte (Öffnungszuckung) für den *M. gastrocnemius* und *M. sartorius* in  $\text{NaCl} + \text{CaCl}_2$ - und  $\text{MgCl}_2 + \text{CaCl}_2$ -Lösungen wiedergegeben sind, nimmt die Erregbarkeit in den  $\text{MgCl}_2$ -Gemischen früher ab, bleibt aber wesentlich länger erhalten als bei Verwendung des ent-

<sup>1)</sup> *Overton*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **92**, 115 und 346. 1902.

<sup>2)</sup> *Hoerber*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **120**, 492. 1907.

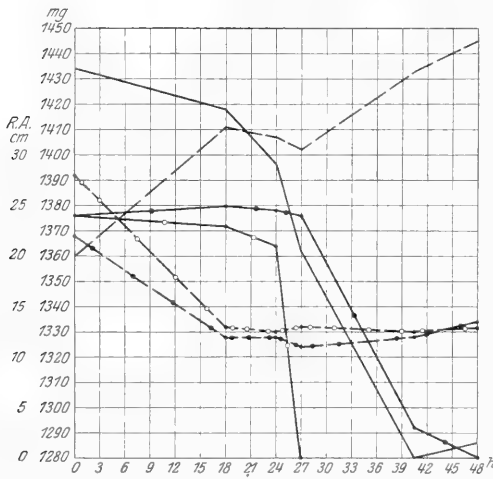


Abb. 4. Das Verhalten des Gewichtes des *M. gastrocnemius* (*Rana esculenta*) in NaCl 5,5 } und MgCl<sub>2</sub> 14,0 }  
 CaCl<sub>2</sub> 2,0 } und CaCl<sub>2</sub> 2,0 }  
 Aq. dest. 1000,0 } Aq. dest. 1000,0 }  
 Die Erregbarkeitskurve, gemessen an dem Rollenabstand, bei dem die Schwelle für die Öffnungszuckung festgestellt wird: *M. gastrocnemius* ○-○-○ und *M. sartorius* —●—● in NaCl 5,5 }  
 CaCl<sub>2</sub> 2,0 }  
 Aq. dest. 1000,0 }  
 und *M. gastrocnemius* —○—○; *M. sartorius* —●—● in MgCl<sub>2</sub> 14,0 }  
 CaCl<sub>2</sub> 2,0 }  
 Aq. dest. 1000,0 }

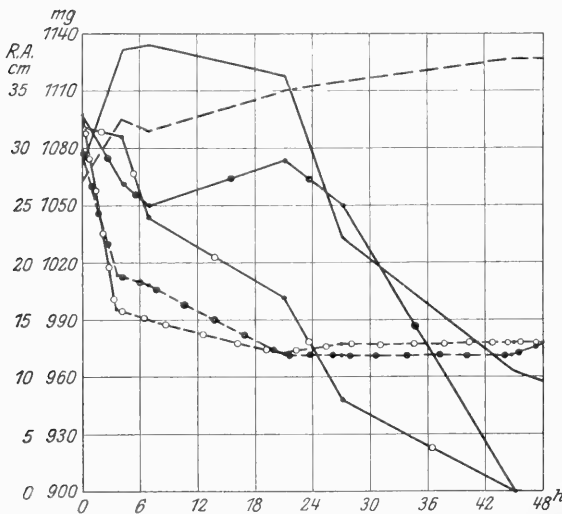


Abb. 5. Muskelgewicht und Erregbarkeit in NaCl 4,3 } und MgCl<sub>2</sub> 12,2 }  
 CaCl<sub>2</sub> 3,0 } und CaCl<sub>2</sub> 3,0 }  
 Aq. dest. 1000,0 } Aq. dest. 1000,0 }  
 Die Bezeichnung der Kurven ist die gleiche, wie in Abb. 4.

sprechenden NaCl + CaCl<sub>2</sub>-Gemisches. So kommt es, daß anfangs die Erregbarkeit bei Gegenwart von NaCl wesentlich größer als in dem MgCl<sub>2</sub>-Gemisch ist. Haben aber beide Lösungen 24 Stunden oder länger eingewirkt, so ist die Erregbarkeit in MgCl<sub>2</sub> + CaCl<sub>2</sub> noch ziemlich gut erhalten, in NaCl + CaCl<sub>2</sub> aber erloschen.

Vergleichen wir die Erregbarkeitskurve mit dem Verhalten des Muskelgewichtes in den drei angewandten Lösungen von gleichem CaCl<sub>2</sub>-Gehalt, so ergibt sich, daß, je stärker der Muskel an Gewicht verliert, je bedeutender also die entquellende Wirkung ist, um so früher auch die Erregbarkeit erlischt.

Wir möchten jedoch schon jetzt betonen, daß hier keine allgemeingültige Regel vorliegt. Wir werden nämlich durch Zufügen von Kaliumchlorid ebenfalls eine starke Verminderung der Erregbarkeit erzeugen können, ohne daß gleichzeitig die Gewichtskurve stärker als bei einziger Anwesenheit von NaCl absinkt.

Abb. 6 möge dieses Verhalten erläutern. In diesem Versuche sind zu 15 ccm der



NaCl-CaCl<sub>2</sub>-Lösung (NaCl 5,5 CaCl<sub>2</sub> 2,0 Aq. 1000) 5 ccm n/8 KCl bzw. 5 ccm n/8 NaCl hinzugefügt werden.

Man erkennt, daß die Erregbarkeit bei Gegenwart von Kalium bedeutend schneller sinkt, als wenn NaCl hinzugesetzt ist. Und während die Gewichtskurve in dem NaCl-CaCl<sub>2</sub>-Gemisch eine leichte Senkung zeigt, tritt bei Anwesenheit von Kalium sogar eine Gewichtszunahme auf. Man hätte dies Verhalten auch erwarten können, weil einerseits nach den Untersuchungen über die Wirkung der Salze auf die Muskel-erregbarkeit die Kationen Natrium und Kalium an den beiden entgegengesetzten Enden der Alkalireihe stehen<sup>1)</sup> und andererseits aus Versuchen über die Hemmung der Säurequellung durch Neutralsalze [Fischer<sup>2)</sup>] die Geltung Reihe CaCl<sub>2</sub> < NaCl < KCl bekannt ist.

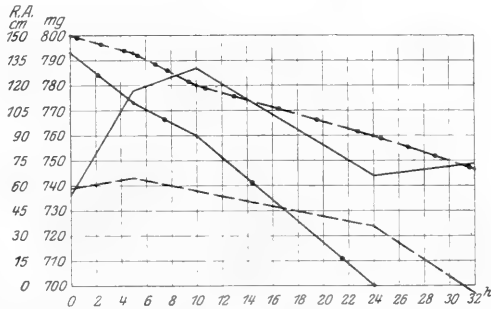


Abb. 6. Das Verhalten des Gewichtes des M. gastrocnemius (*Rana esculenta*) in  
 NaCl 5,5  
 CaCl<sub>2</sub> 2,0  
 Aq. dest. 1000,0  
 + KCl n/8 5,0 cm } 15,0 ccm — (Erregbarkeitskurve —●—)  
 und in NaCl 5,5  
 CaCl<sub>2</sub> 2,0  
 Aq. dest. 1000,0 } 15,0 ---  
 + NaCl n/8 5,0  
 (Erregbarkeitskurve —●—●—●—).

Es bleibt nunmehr die Aufgabe, das differente Verhalten des Froschmuskels in Lösungen von gleichem Calciumgehalt in seiner Abhängigkeit von der gleichzeitigen Anwesenheit anderer Elektrolyte (Natrium, Kalium) oder Rohrzucker zu erklären. Wir werden auf Grund der Analysen eine theoretische Deutung zu geben versuchen.

Es interessierte uns die weitere Frage, welches Verhalten die Gewichtskurve in 0,7 proz. Kochsalzlösung zeigt, wenn der Muskel 18 bis 24 Stunden vorher in bestimmten CaCl<sub>2</sub>-haltigen Lösungen verblieben war. Wissen wir doch z. B. von Kolloiden, daß die Quellungs-fähigkeit von dem vorhandenen Quellungsgrad abhängig ist. Wenn diese Gesetzmäßigkeiten für den Muskel unter den genannten Bedingungen gelten würden, so wäre eine stärkere Quellbarkeit der Muskeln zu erwarten, die vorher mit Rohrzucker + CaCl<sub>2</sub>, eine geringere aber, die mit NaCl + CaCl<sub>2</sub> vorbehandelt waren. In diesem Zusammenhang inter-

<sup>1)</sup> Die Reihe K < Rb < Cs < Na, Li gilt nicht nur für die Herabsetzung der Erregbarkeit (*Overton*), sondern auch für die Erzeugung eines Ruhestromes am Muskel, auch hierbei zeigt sich nach *Hoebers* Untersuchungen (*Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **106**, 599. 1905 ein entgegengesetztes Verhalten von Natrium und Kalium, indem letzteres einen regulären, Natrium aber einen konträren Ruhestrom hervorruft.

<sup>2)</sup> *M. H. Fischer*, *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **124**, 69. 1908.

essiert es, daß Schwarz<sup>1)</sup> für den Froschmuskel (Gastrocnemius) in gereiztem und ungereiztem Zustande die gleiche Quellungs-fähigkeit nachweisen konnte, obwohl die Kurven in ihrem zeitlichen Verlauf sehr starke Unterschiede aufweisen. Die Ergebnisse unserer Versuche seien an einigen Abbildungen erläutert. Was zunächst die Quellung in 0,7 proz. NaCl-Lösung nach vorhergehender Einwirkung von Rohrzucker + CaCl<sub>2</sub> bzw. NaCl + CaCl<sub>2</sub> (CaCl<sub>2</sub> in 0,4 proz. Lösung) anlangt, so zeigen die Gewichtskurven (Abb. 7) im ganzen einen nahezu parallelen

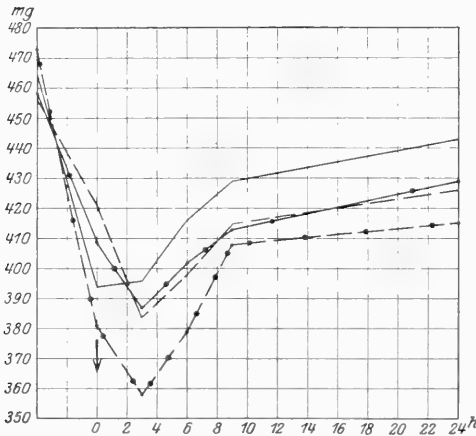


Abb. 7. Die Quellung des *M. gastrocnemius* in 0,7% NaCl-Lösung nach vorhergehender Einwirkung von NaCl 4,0 (—●—) oder CaCl<sub>2</sub> 4,0 (---●---) Aq. dest. 1000,0 (—■—) oder CaCl<sub>2</sub> 4,0 (---■---) Aq. dest. 1000,0. Der Zeitpunkt der Übertragung in Kochsalzlösung ist in der Kurve durch einen Pfeil bezeichnet. Die Kurven —●— und ---●--- einerseits, ferner —■— und ---■--- andererseits, gehören zusammen, da die Muskeln von gleichen Tieren stammen. Die Einwirkungszeit des Calciumgemisches beträgt in dem ersten Versuche 17, im zweiten 24 Stunden.

Verlauf, so daß von einem wesentlich verschiedenen Quellungsvermögen nicht gesprochen werden kann. Nur die erste Phase der Gewichtskurve nach Übertragung der Muskeln in 0,7 proz. NaCl bedarf noch einer Erläuterung. Hier fällt nämlich auf, daß die in Rohrzucker + CaCl<sub>2</sub> befindlichen Muskeln regelmäßig in den ersten Stunden in Kochsalzlösungen stark an Gewicht abnehmen, während eine solche Abnahme an den NaCl + CaCl<sub>2</sub>-Muskeln bisweilen fehlt oder in geringerem Maße auftritt. Vergleicht man nunmehr den Gewichtsunterschied der beiden Muskeln zur Zeit des größten Gewichtsverlustes (einige Stunden nach der Übertragung in Kochsalzlösung) mit der maximalen Quellung nach etwa 24 Stunden, so sieht man nur kleine Verschiebungen bald nach der einen, bald nach der anderen Seite, die die Ablehnung der Annahme eines durch die Vorbehandlung bewirkten verschiedenen Quellungsvermögens rechtfertigen. In gleichem Sinne, aber noch instruktiver, spricht der Versuch der Abb. 8, in der die CaCl<sub>2</sub> Lösung nur 0,2% ist. Infolgedessen sind die Gewichtsunterschiede, die durch die Vorbehandlung in NaCl + CaCl<sub>2</sub> bzw. durch Rohrzucker + CaCl<sub>2</sub> hervorgerufen sind, noch größer, da in NaCl + CaCl<sub>2</sub> nur ein sehr geringer Gewichtsverlust eintritt (Abb. 8). Trotzdem ist die Quellung des Rohrzuckermuskels sogar noch etwas geringer als die des

<sup>1)</sup> Schwarz, Biochem. Zeitschr. 37, 34. 1911.

NaCl + CaCl<sub>2</sub>-Muskels. So kommt es, daß ersterer während 24 Stunden in 0,7 proz. NaCl-Lösung nicht einmal sein Anfangsgewicht erreicht, letzterer dagegen eine Gewichtszunahme um fast 100 mg aufweist.

In gleichem Sinne sind auch die in Abb. 9 und 10 wiedergegebenen Versuche ausgefallen. Trotz der bedeutend größeren Gewichtsabnahme bei der Vorbehandlung in Rohrzucker + CaCl<sub>2</sub> ist die Quellung in 0,7 proz. NaCl-Lösung fast völlig gleich. Weiterhin aber zeigt sich, daß die Quellung in Kochsalzlösung auch bei den mit dem gleichen Salzgemisch vorbehandelten Muskeln nicht zu dem gleichen Ergebnis führt, wenn wir das Endgewicht des Muskels mit seinem Anfangsgewicht vergleichen. Nach Vorbehandlung mit 0,4 proz. CaCl<sub>2</sub>-Lösung + NaCl (A) bzw. + Rohrzucker (B) innerhalb 16–24 Stunden, gelingt es nicht durch Quellung in Kochsalzlösung das ursprüngliche Gewicht des Muskels zu erreichen. Verwendet man hingegen CaCl<sub>2</sub> in 0,2 proz. Lösung, so wird in einem Teil der Versuche in der Kochsalzlösung eine stärkere Quellung, als zu Beginn des Ver-

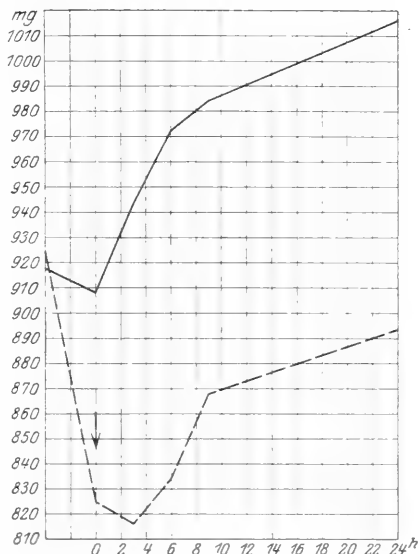


Abb. 8. Die Quellung des *M. gastrocnemius* (*Rana esculenta*) in 0,7 proz. Kochsalzlösung nach vorhergehender Einwirkung von NaCl 5,5 } und CaCl<sub>2</sub> 2,0 }  
 CaCl<sub>2</sub> 2,0 } Rohrz. 47,0 }  
 Aq. dest. 1000,0 } Aq. dest. 1000,0 }  
 Die Einwirkungszeit des Calciumgemisches beträgt 21 Stunden.

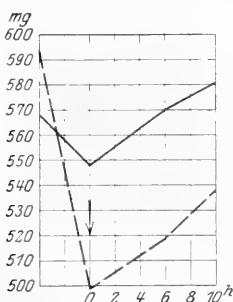


Abb. 9. Die Einwirkungszeit des Calciumgemisches beträgt 18 Stunden.

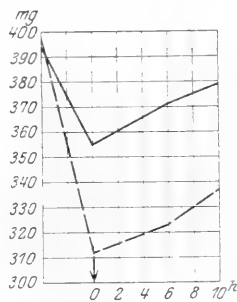


Abb. 10. Bezeichnung wie in Abb. 9.

suches bestand, erreicht (z. B. Abb. 8 und 9); in einem Teil der Versuche wird allerdings auch unter diesen Bedingungen das Anfangsgewicht

nicht erreicht (vgl. Abb. 10). Wir werden diese Verschiedenheiten zum Teil auf Permeabilitätsschwankungen beziehen können, die durch den Präparationsreiz veranlaßt werden<sup>1)</sup>, im wesentlichen wird man aber hier funktionelle Unterschiede zwischen den einzelnen Muskeln annehmen müssen<sup>2)</sup>.

Aus den Versuchen geht unzweideutig hervor, daß der Wasserverlust, den der Muskel durch Vorbehandlung mit verschiedenen Calciumgemischen (NaCl + CaCl<sub>2</sub> und Rohrzucker + CaCl<sub>2</sub>) erlitten hat, nicht allein maßgebend für die Wasserbindungsfähigkeit des Muskels ist. Wahrscheinlich ist der Zustand der Kolloide auch in bestimmter Richtung verändert worden. In diesem Sinne müssen wohl auch die Versuche *M. H. Fischers*<sup>3)</sup> über die Muskelquellung aufgefaßt werden. Denn dieser fand z. B., daß, nachdem die Entquellung des *M. gastrocnemius* in HCl + CaCl<sub>2</sub> während 114 Stunden zu einer Gewichtsabnahme von 32, 47% geführt hatte, die Übertragung in Säure, bezogen auf das Anfangsgewicht des Muskels, nur eine sehr geringe Gewichtszunahme bewirkt (2,59%).

## II. Analytische Untersuchungen über die Aufnahme von Calcium durch den quergestreiften Muskel unter verschiedenen Bedingungen.

Gegenwärtig wird zumeist, besonders im Anschluß an die mehrfach erwähnten *Overtonschen* Untersuchungen, angenommen, daß der Muskel für Calcium, wenigstens nicht in zu hohen Konzentrationen, impermeabel ist. Erst in Calciumchloridlösungen von höherem Gehalt, z. B. in isotonischer Calciumchloridlösung, soll Calcium in die Zellen eindringen und hierdurch irreversible Gewichtsabnahme des Muskels veranlassen. Wir hielten aber von vornherein die Annahme, daß Calcium von den Zellen, speziell also von der quergestreiften Muskulatur nicht aufgenommen wurde, für wenig wahrscheinlich, da wir ja die Bedeutung des Calciums für zahlreiche Zellfunktionen, insbesondere die Erregbarkeit, kennen und annehmen müssen, daß der Organismus bis zu einem gewissen Grade die Calciumaufnahme und damit auch die Erregbarkeit zu regulieren imstande ist. Um diese Anschauung aber auf die Richtigkeit zu prüfen, haben wir mittels einer von *Kramer* und *Tisdall*<sup>4)</sup> angegebenen Mikro-Calciummethode eine große Anzahl von Bestimmungen ausgeführt, indem wir in der Flüssigkeit, in der der Muskel während des Versuches verbleibt, den Kalkgehalt zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmten.

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu die analogen Erfahrungen von *Emlden* und *Adler*, Zeitschr. f. physiol. Chemie **118**, 1. 1922.

<sup>2)</sup> Siehe weiter unten S. 599.

<sup>3)</sup> *M. H. Fischer*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **124**. 1908, spez. S. 95 u. 96.

<sup>4)</sup> *Kramer* und *Tisdall*, Bull. of the Johns Hopkins hosp. **32**, **44**. 1921.

Über die Aufnahme von Calcium durch tierische Gewebe und durch Gallerten liegen bereits eine Reihe von Untersuchungen vor. Besonders die eingehenden Untersuchungen von *Pfaundler*<sup>1)</sup> haben gezeigt, daß Calcium von Gallerten ebenso wie von Knochen, Muskel, Niere aufgenommen wird. Allerdings sind diese Befunde ganz anders zu bewerten als unsere eigenen Versuche. Die adsorptive Bindung von Calcium — als solche faßt auch *Pfaundler* die Bindung von Calcium durch Gallerten und die untersuchten tierischen Gewebe auf — wird an *zerkleinerter* Muskulatur, Niere usw. nachgewiesen, kann also über die Aufnahme von Calcium durch die genannten Gewebe während des Lebens, wenn die Struktur keinerlei Änderung erfahren hat, nichts besagen. Allerdings hat *Pfaundler* auch Versuche mitgeteilt, in denen er an Hunden und frischen menschlichen Leichen nach Beseitigung des Blutes durch isotonische Kochsalzlösung die hinteren Extremitäten mit einer  $\frac{1}{10}$  normalen  $\text{CaCl}_2$ -Lösung durchspülte, der Natriumacetat zur Herstellung der Isotonie beigefügt war. Die Analyse des aus der Vena femoralis ausfließenden Blutes ergab nun ebenfalls eine Abnahme des Kalkgehaltes. Es ist also auf diese Weise die Aufnahme von Calcium durch das überlebende Gewebe nachgewiesen worden. Es scheint uns aber, daß dieses Experiment doch in mancher Hinsicht als unphysiologisch bezeichnet werden muß und deshalb die Durchgängigkeit der Capillaren für Calcium unter natürlichen Verhältnissen noch nicht ausreichend bewiesen sein dürfte. Zwar fehlt in der Arbeit *Pfaunders* eine Mitteilung über die Höhe des Druckes, unter dem die Durchspülungsflüssigkeit stand; man braucht aber, um das Gefäßsystem völlig von Blutresten zu befreien, ziemlich hohe Drucke, und außerdem traten auch in diesen Versuchen, wie wir es ja auch aus zahlreichen Erfahrungen mit langdauernder Durchspülung der hinteren Extremitäten des Frosches kennen, starke Ödeme auf. Auch die neueren Arbeiten von *Freudenberg* und *György*<sup>2)</sup> kommen für unsere Frage nicht in Betracht, da die Autoren die Kalkbindung an zerkleinertem oder getrocknetem Knorpel, zum Teil auch an Gehirnbrei untersuchten.

*Deshalb schien es uns notwendig, Versuche darüber anzustellen, ob aus lebendem Gewebe, dessen Struktur erhalten ist, eine Kalkaufnahme nachgewiesen und ob auf diese Weise eine Erklärung für die Calciumwirkung gefunden werden kann.*

Wir beschränken uns in dieser ersten Mitteilung lediglich auf Versuche, die an der quergestreiften Muskulatur des Frosches ausgeführt wurden. Zur Verwendung kamen sowohl *Rana temporaria* wie *esculenta* (beide als Winter- und als Sommerfrösche).

---

<sup>1)</sup> *Pfaundler*, Jahrbuch für Kinderheilkunde. **60**, 471. 1904.

<sup>2)</sup> *Freudenberg* und *György*, Bioch. Zeitschr. **110**, **115**, **121**, **124**. 1920/22.

Nach Dekapitation werden die Frösche enthäutet und die hinteren Extremitäten von den Beckenknochen und -muskeln isoliert, wobei Verletzungen der Muskulatur sorgfältig vermieden werden. Jede Extremität wird mit Filtrierpapier abgetrocknet, gewogen und dann in eine abgemessene Menge einer calciumhaltigen Flüssigkeit übertragen. Sämtliche Versuche werden bei Eisschranktemperatur ausgeführt. In bestimmten Zeitabständen wird 1 ccm Flüssigkeit entnommen und hierin genau nach den Vorschriften von *Kramer* und *Tisdall* der Kalkgehalt bestimmt. Es werden stets 1—2 Kontrollbestimmungen ausgeführt. Die Bestimmungen ergeben sehr gut miteinander übereinstimmende Werte. Die Differenz beträgt im allgemeinen bei Verwendung von  $\frac{n}{100}$   $\text{KMnO}_4$  nicht mehr als 0,05 ccm. Durch Multiplikation der Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter mit 0,2 ergibt sich die Calciummenge in mg für 1 ccm. Die Erregbarkeit wird in allen Versuchen durch die Bestimmung der Öffnungsschwelle am *M. sartorius* festgestellt.

Nachdem wir in einer Reihe von Versuchen die Kalkbindung durch den lebenden Muskel nachgewiesen hatten, gingen wir zur Entscheidung der Frage über, ob entsprechend der stärker auftretenden Calciumwirkung in Gegenwart von Rohrzucker (stärkere Gewichtsabnahme und Verkürzung des Muskels) im Vergleich zu  $\text{NaCl} + \text{CaCl}_2$ -Gemischen auch die Calciumaufnahme im ersten Falle vermehrt sei. Zahlreiche Versuche bestätigen diese Annahme.

*Versuch Nr. 1.* *Rana tempor.* Gewicht jeder Extremität 4,8 g.

A. NaCl 5,5 CaCl <sub>2</sub> 2,0 Aq. dest. 1000,0	} 20,0 ccm	B. Rohrzucker 47,0 CaCl <sub>2</sub> 2,0 Aq. dest. 1000,0	} 20,0 ccm
--	------------	---	------------

Das Verhalten der Erregbarkeit während des Versuches.

A. 1.	Versuchstag 4 <sup>h</sup>	nachm.	Schwelle des <i>M. sartorius</i>	bei	160 mm RA. <sup>1)</sup>
2.	„	10 <sup>h</sup>	vorm.	„	125 mm RA.
3.	„	10 <sup>h</sup>	vorm.	„	110 mm RA.
B. 1.	Versuchstag 4 <sup>h</sup>	nachm.	„	„	140 mm RA.
2.	„	10 <sup>h</sup>	vorm.	„	85 mm RA.
3.	„	10 <sup>h</sup>	vorm.	„	80 mm RA.

Der Gehalt der Flüssigkeit an Calcium. Es werden pro 1 ccm Flüssigkeit zur Titration  $\frac{n}{100}$   $\text{KMnO}_4$  verbraucht:

A. 1. 3,85 ccm	B. 1. 3,85 ccm
2. 3,39 ccm	2. 3,22 ccm
3. 3,12 ccm	3. 2,83 ccm

Hieraus berechnet sich der Gehalt an *Calcium*

A. 1. <b>0,0770%</b> Calcium <b>100%</b>	B. 1. 0,0770% <b>100%</b>
2. <b>0,0678%</b> Calcium <b>88%</b>	2. 0,0644% <b>83,6%</b>
3. <b>0,0624%</b> Calcium <b>81%</b>	3. 0,0566% <b>73,5%</b>

*Versuch Nr. 1.* Aus diesem Versuch geht klar hervor, daß die Schnelligkeit, mit der die Muskeln der Umgebungsflüssigkeit Calcium entziehen, und die Gesamt-

<sup>1)</sup> RA. = Rollenabstand.

menge im Falle *B* (Rohrzucker) größer ist als bei Gegenwart von NaCl (*A*). Innerhalb 18 Stunden hat sich bei *A* der Kalkgehalt um 12%, bei *B* um 16,4% vermindert; nach weiteren 24 Stunden beträgt die Gesamtabnahme 19% (*A*) bzw. 26,5% (*B*). Besonderes Gewicht möchten wir in diesem wie auch in den folgenden Versuchen auf die Tatsache legen, daß während der 42 stündigen Dauer des Versuches die Muskeln erregbar bleiben. Wie aus dem Protokoll hervorgeht, ist die Abnahme der Erregbarkeit bei *B* stärker als bei *A*. Immerhin sind noch am Ende des Versuches alle Muskeln erregbar.

Versuch Nr. 2. *Rana temporaria*. Gewicht jeder Extremität 6,8 g.

A. NaCl 5,5	} 20,0 ccm	B. Rohrzucker 47,0
CaCl <sub>2</sub> 2,0		CaCl <sub>2</sub> 2,0
Aq. dest. 1000,0		Aq. dest. 1000,0

Das Verhalten der Erregbarkeit während des Versuches:

A. 1. Versuchstag	10 <sup>h</sup>	vorm.	Schwelle des <i>M. sartorius</i>	150 mm RA.
2. "	10 <sup>h</sup>	"	" " " "	120 mm RA.
3. "	10 <sup>h</sup>	"	" " " "	120 mm RA.
B. 1. "	10 <sup>h</sup>	"	" " " "	145 mm RA.
2. "	10 <sup>h</sup>	"	" " " "	50 mm RA.
3. "	10 <sup>h</sup>	"	" " " "	unerregbar; Öffnungs- zuckung der Zehenmuskulatur bei 50 mm RA. Nach Übertragung in 0,7 proz. NaCl-Lösung ist auch die übrige Muskulatur wieder erregbar geworden. (Öffnungsschwelle für die Unterschenkelmuskulatur 90 mm RA.)

Der Gehalt der Flüssigkeit an Calcium. Es werden pro 1 ccm Flüssigkeit zur Titration  $\frac{n}{100}$  KMnO<sub>4</sub> verbraucht:

A. 1. 3,85 ccm	B. 1. 3,85 ccm
2. 3,50 ccm	2. 3,13 ccm
3. 2,90 ccm	3. 2,66 ccm

Hieraus berechnet sich der Gehalt der Flüssigkeit an Calcium

A. 1. 0,077%	100%	B. 1. 0,0770%	100%
2. 0,070%	90,9%	2. 0,0626%	81,2%
3. 0,058%	75,3%	3. 0,0532%	69,1%

Versuch Nr. 2. An dem Versuche Nr. 2, der in entsprechender Weise ausgeführt wurde, zeigt sich bei einer Gesamtdauer des Versuches von 48 Stunden, daß die Erregbarkeit der Rohrzuckermuskeln noch beträchtlich stärker sinkt als in dem ersten Versuche. Der *M. sartorius* ist sogar vollständig unerregbar geworden. Da aber auch in diesem Versuche die Erregbarkeit durch Übertragung in NaCl-Lösung wiederhergestellt werden konnte, so stehen der Verwendung der Calciumanalysen keine Bedenken entgegen. Die Aufnahme von Calcium in *A* und *B* zeigt die gleichen Unterschiede wie Versuch 1. Absolut genommen ist aber die aufgenommene Menge noch größer; denn am dritten Versuchstage hat die Flüssigkeit bei *A* um 24,7 und bei *B* um 30,9% abgenommen. Berücksichtigt man aber, daß in diesem Versuche die Muskulatur schwerer als in Versuch Nr. 1 ist, so erhält man bei Berechnung der Ca-Aufnahme pro Gramm Muskulatur ziemlich gut miteinander übereinstimmende Zahlen. Eine Reihe von Bestimmungen ergaben, daß das Gewicht der Knochen der hinteren Extremität etwa 20% des Gewichtes von Knochen und Muskulatur beträgt. Bringt man diese 20% in Abzug, so ergibt sich, daß in Versuch 1 (*A*) 0,76 mg Ca, in Versuch 2 (*A*) 0,69 mg Ca, in Versuch 4 (*A*) 0,69 mg Ca pro g aufgenommen ist. Die 3 Versuche sind an *Ran. temporaria* (frisch gefangene Frösche) im Mai angestellt worden. Die weiteren Versuche zeigen, daß von einer konstanten Größe der Kalkaufnahme nicht gesprochen werden kann; vielmehr scheinen Artdifferenzen und Saisonunterschiede von großem Einfluß zu sein.

*Versuch Nr. 3.* *Rana esculenta* ♂. Gewicht einer Extremität 4,6 g.

A. NaCl 4,0 CaCl <sub>2</sub> 4,0 Aq. 1000,0	} 20,0 ccm	B. Rohrzucker 34,0 CaCl <sub>2</sub> 4,0 Aq. 1000,0	} 20,0 ccm
--	------------	---	------------

Das Verhalten der Erregbarkeit während des Versuches:

A. 1.	Versuchstag	9h 30'	vorm.	Schwelle des	M. sartorius	300 mm RA.
2.	"	9h 30'	"	"	"	120 mm RA.
B. 1.	"	9h 30'	"	"	"	330 mm RA.
2.	"	9h 30'	"	"	"	140 mm RA.

Der Gehalt der Flüssigkeit am Calcium. Es werden pro 1 ccm Flüssigkeit zur Titration  $\frac{n}{100}$  KMnO<sub>4</sub> verbraucht:

A. 1. 7,84 ccm	B. 1. 7,84 ccm
2. 6,79 ccm	2. 6,39 ccm

Hieraus berechnet sich der Gehalt der Flüssigkeit an Calcium:

A. 1. 0,1568 % Calcium 100%	B. 1. 0,1568% Calcium 100%
2. 0,1358% Calcium 86,6%	2. 0,1278% Calcium 81,5%

*Versuch Nr. 3.* An diesem Versuch, der an *Rana esculenta* ausgeführt ist, tritt bei einer Versuchsdauer von 24 Stunden ebenfalls die stärkere Calciumaufnahme durch den Rohrzucker Muskel ein. Bemerkenswert erscheint der Umstand, daß die spezifische Rohrzuckerwirkung auch dann beobachtet wird, wenn, wie in diesem Falle, die Kurve der Erregbarkeit noch keine stärkere Senkung im Vergleich zu dem NaCl + CaCl<sub>2</sub>-Versuche zeigt.

Es interessierte uns nun die weitere Frage, in welchem Grade die Calciumaufnahme von der Konzentration des Calciums in der Lösung abhängt, wenn sonst alle Bedingungen ganz gleich gehalten werden.

*Versuch Nr. 4.* *Rana temporaria* ♂. Gewicht jeder Extremität 5,1 g.

A. NaCl 5,5 CaCl <sub>2</sub> 2,0 Aq. dest. 1000,0	} 20,0 ccm	B. NaCl 4,0 CaCl <sub>2</sub> 4,0 Aq. dest. 1000,0	} 20,0 ccm
--	------------	--	------------

Das Verhalten der Erregbarkeit während des Versuches:

A. 1.	Versuchstag	9h 30'	vorm.	Schwelle des	M. sartorius	180 mm RA.
2.	"	9h 30'	"	"	"	120 mm RA.
3.	"	9h 30'	"	"	"	110 mm RA.
B. 1.	"	9h 30'	"	"	"	180 mm RA.
2.	"	9h 30'	"	"	"	130 mm RA.
3.	"	9h 30'	"	"	"	150 mm RA.

Der Gehalt der Flüssigkeit an Calcium. Es werden pro 1 ccm Flüssigkeit zur Titration  $\frac{n}{100}$  KMnO<sub>4</sub> verbraucht:

A. 1. 3,85 ccm	B. 1. 7,52 ccm
2. 3,67 ccm	2. 6,95 ccm
3. 3,14 ccm	3. 6,27 ccm

Hieraus berechnet sich der Gehalt der Flüssigkeit an Calcium:

A. 1. 0,077% 100%	B. 1. 0,1504% 100%
2. 0,0734% 95,1%	2. 0,1390% 92,4%
3. 0,0628% 81,5%	3. 0,1254% 83,3%

*Versuch Nr. 4.* Hierüber gibt Versuch 4 Auskunft. Die Erregbarkeitskurve zeigt in diesem Versuche sogar bei stärkerer Konzentration (B) des Calciums (0,4%) innerhalb 48 Stunden einen geringeren Abfall als in 0,2proz. Ca-Lösung (A), was natürlich als rein zufällig bewertet werden muß. Jedenfalls zeigen sich bei Verwendung von NaCl + CaCl<sub>2</sub>-Gemischen, in denen die Konzentration des Calciums zwischen 0,2 und 0,4% schwankt, im allgemeinen nur ziemlich geringe



Unterschiede hinsichtlich der Muskeleirregbarkeit. Betrachtet man die Prozentzahlen, die die relative Calciumaufnahme durch den Muskel angeben, so erkennt man, daß die Flüssigkeit etwa die gleiche relative Menge an Calcium in dem Versuche *A* und *B* verloren hat. Mit anderen Worten: Nimmt der Calciumgehalt der Nährflüssigkeit von 0,2 auf 0,4% zu, so wird von der Muskulatur auch fast die doppelte Menge an Calcium aufgenommen.

Eine Reihe weiterer Versuche wurde zur Entscheidung des Einflusses von Kaliumchlorid auf die Aufnahme von Calcium durch den Muskel angestellt. Es sollte dadurch entschieden werden, ob mit dem Sinken der Erregbarkeit stets eine größere Permeabilität für Calcium einhergeht.

Wir kennen bereits aus einer großen Zahl von Untersuchungen die Bedeutung des funktionellen Zustandes der Zelle für die Permeabilität. Nun kann auch die Erregbarkeit u. a. als ein Kriterium dieses Zustandes angesehen werden und, es ist von vornherein denkbar, daß mit der gleichsinnigen Beeinflussung der Erregbarkeit durch verschiedene Agenzien auch die Permeabilität, gemessen an der Aufnahme von Calcium durch den Muskel, entsprechende Veränderungen zeigen würde. So hat z. B. die Zustandsänderung des Gewebes durch den Übergang aus Ruhe in Tätigkeit das Auftreten des Aktionsstromes im Muskel zur Folge, der nach *Bernstein*<sup>1)</sup> und *Hoerber*<sup>2)</sup> durch Vermehrung der Ionenpermeabilität gedeutet werden kann, und neuere Untersuchungen von *Emden* und *Adler*<sup>3)</sup> konnten ebenfalls durch Feststellung der Vermehrung der Phosphorsäureausscheidung des tätigen im Vergleich zum ruhenden Muskel einen Beweis für die Erhöhung der Permeabilität infolge der Tätigkeit erbringen. In diesem Sinne sprechen auch die Versuche von *Gildemeister*<sup>4)</sup> und *Schwarz*<sup>5)</sup> über den psychogalvanischen Reflex, der als die Folge der erhöhten Permeabilität der Schweißdrüsen aufgefaßt wird.

Unsere Untersuchungen konnten nun den einwandfreien Beweis erbringen, daß, obwohl die Erregbarkeit bei Zusatz von KCl zu einem Gemisch von NaCl + CaCl<sub>2</sub> ebenso herabgesetzt wird im Vergleich zu der Größe der Erregbarkeit in NaCl + CaCl<sub>2</sub>-Lösungen wie in Rohrzucker + CaCl<sub>2</sub>, dennoch bezüglich der Calciumaufnahme prinzipielle Unterschiede vorliegen dürften. Während nämlich, wie bisher geschildert, in Rohrzucker + CaCl<sub>2</sub>-Gemischen stets eine deutlich erhöhte Calciumaufnahme stattfindet, lassen sich keine Unterschiede hinsichtlich der Aufnahme von Calcium durch die Muskulatur nachweisen.

<sup>1)</sup> *J. Bernstein*, Elektrobiologie. Braunschweig 1912.

<sup>2)</sup> *Hoerber*, Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe. 4. Aufl. Leipzig und Berlin 1914, S. 441 und Kap. 12.

<sup>3)</sup> *Emden* und *Adler*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **118**, 1. 1922.

<sup>4)</sup> *Gildemeister*, Münch. med. Wochenschr. 1913, S. 2389.

<sup>5)</sup> *A. Schwartz*, Zentralbl. f. Physiol. **27**, 734. 1913.

wenn zu NaCl + CaCl<sub>2</sub>-Gemischen Kaliumchlorid zugesetzt wird oder nicht. Ein Schematismus, der die Permeabilität in direkte Abhängigkeit von der Erregbarkeit bringen möchte, ist also in keiner Weise gerechtfertigt. Übrigens weisen auch die oben angeführten Versuche über das Verhalten des Muskelgewichtes auf die Verschiedenheit in der Wirkung beider Lösungen hin.

Bei unseren Versuchen gingen wir so vor, daß zu 15 ccm des NaCl + CaCl<sub>2</sub>-Gemisches 5 ccm  $\frac{n}{8}$  NaCl bzw. KCl hinzugefügt wurden. Es konnte so, ohne daß der osmotische Druck der Lösung geändert wurde, die Wirkung von Kaliumchlorid auf die Permeabilität deutlich festgestellt werden. In dem Versuch Nr. 5, in dem CaCl<sub>2</sub> in 0,4 proz. Lösung verwendet wird, zeigt sich ein sehr starkes Sinken der Erregbarkeit in Gegenwart von Kaliumchlorid.

*Versuch Nr. 5.* Rana esculenta ♂. Gewicht jeder Extremität 7,5 g.

<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">A. NaCl 4,0</td> <td rowspan="3" style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">}</td> <td rowspan="3" style="vertical-align: middle;">15,0 ccm</td> </tr> <tr> <td>CaCl<sub>2</sub> 4,0</td> </tr> <tr> <td>Aq. 1000,0</td> </tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center;">NaCl <math>\frac{n}{8}</math> 5,0 ccm</td> </tr> </table>	A. NaCl 4,0	}	15,0 ccm	CaCl <sub>2</sub> 4,0	Aq. 1000,0	NaCl $\frac{n}{8}$ 5,0 ccm			<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">B. NaCl 4,0</td> <td rowspan="3" style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">}</td> <td rowspan="3" style="vertical-align: middle;">15,0 ccm</td> </tr> <tr> <td>CaCl<sub>2</sub> 4,0</td> </tr> <tr> <td>Aq. 1000,0</td> </tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center;">KCl <math>\frac{n}{8}</math> 5,0 ccm</td> </tr> </table>	B. NaCl 4,0	}	15,0 ccm	CaCl <sub>2</sub> 4,0	Aq. 1000,0	KCl $\frac{n}{8}$ 5,0 ccm		
A. NaCl 4,0	}			15,0 ccm													
CaCl <sub>2</sub> 4,0																	
Aq. 1000,0																	
NaCl $\frac{n}{8}$ 5,0 ccm																	
B. NaCl 4,0	}	15,0 ccm															
CaCl <sub>2</sub> 4,0																	
Aq. 1000,0																	
KCl $\frac{n}{8}$ 5,0 ccm																	

Das Verhalten der Erregbarkeit während des Versuches:

- |  |   |
|--|---|
| <p>A. 1. Versuchstag 10<sup>h</sup> vorm. Schwelle des M. sartorius 340 mm RA.<br/>         2. Versuchstag 10<sup>h</sup> vorm. Schwelle des M. sartorius 130 mm RA.<br/>         3. Versuchstag 10<sup>h</sup> vorm. M. sartorius unerregbar. Zehenmuskulatur erregbar bei 0 mm RA.</p> | <p>B. 1. Versuchstag 10<sup>h</sup> vorm. Schwelle des M. sartorius 370 mm RA.<br/>         2. Versuchstag 10<sup>h</sup> vorm. M. sartorius unerregbar. Zehenmuskulatur bei 0 mm RA. erregbar.<br/>         3. Versuchstag 10<sup>h</sup> vorm. M. sartorius unerregbar. Zehenmuskulatur ebenfalls unerregbar.</p> |
|--|---|

Der Gehalt der Flüssigkeit an Calcium. Es werden pro 1 ccm Flüssigkeit zur Titration  $\frac{n}{100}$  KMnO<sub>4</sub> verbraucht:

A. 1. 5,83 ccm	B. 1. 5,76 ccm
2. 3,96 ccm	2. 3,80 ccm
3. 2,85 ccm	3. 2,74 ccm

Hieraus berechnet sich der Gehalt der Flüssigkeit an Calcium:

A. 1. 0,1166% 100%	B. 1. 0,1152% 100%
2. 0,0792% 67,9%	2. 0,0760% 65,9%
3. 0,0570% 48,8%	3. 0,0548% 47,5%

*Versuch Nr. 5.* Bereits nach 24 Stunden ist der M. sartorius völlig unerregbar, und sogar die Zehenmuskulatur, die am längsten erregbar bleibt, gibt erst bei 0 mm Rollenabstand schwache Zuckungen. Im Kontrollversuch ist hingegen auch der Sartorius noch gut erregbar. Nach weiteren 24 Stunden sind bei Gegenwart von KCl sämtliche Muskeln unerregbar geworden, während im Versuche A die Zehenmuskulatur noch auf Reize anspricht. Der Unterschied hinsichtlich der muskulären Erregbarkeit ist also ein sehr bedeutender. Man kann sagen, daß die Erregbarkeit im Versuch B (KCl) in 24 Stunden so tief gesunken ist wie im Versuch A nach 48 Stunden. Betrachten wir nunmehr das Ergebnis der Calciumbestimmungen, so erkennen wir, daß keine sicheren Unterschiede zwischen A und B vorhanden sind. Beträgt doch die Differenz zwischen A und B, wenn wir die relativen Veränderungen des Calciumgehaltes der Flüssigkeit berücksich-

tigen, am 2. Versuchstage 2% und am 3. sogar nur 1%. Hingegen betragen die entsprechenden Differenzen zwischen der Calciumaufnahme durch Rohrzucker- bzw. NaCl-Muskeln (vgl. Versuch 1—3) am 2. Versuchstage: 4,4% (Versuch 1); 9,7% (Versuch 2); 5,1% (Versuch 3); am 3. Versuchstage 7,5% (Versuch 1), 6,2% (Versuch 2).

Interessant ist weiter an diesem Versuche der außerordentlich hohe Betrag der Calciumaufnahme. Die bisher vorwiegend an *Rana temporaria* angeführten Versuche ergaben bei gleichem Calciumgehalt wesentlich geringere Werte. Auch in Versuchen, die an Winterfröschen von *Rana esculenta* ausgeführt wurden, war die Calciumaufnahme geringer. Wir können zunächst keine sicheren Ursachen für das unterschiedliche Verhalten der gleichen Art zu verschiedenen Jahreszeiten und für die Artdifferenzen zwischen *Rana esculenta* und *temporaria* verantwortlich machen. Mit Rücksicht aber auf die Zusammenhänge, die zwischen Funktion und Permeabilität bestehen, sind natürlich Unterschiede zwischen frisch gefangenen und in der Gefangenschaft überwinterten Tieren sehr wohl verständlich. Es wird aber auch hier noch zu untersuchen sein, ob nicht auch die quantitativen Verschiedenheiten in der Tätigkeit der Drüsen mit innerer Sekretion, die im Verlaufe des Jahres auftreten — so hat z. B. Kori<sup>1)</sup> kürzlich die fehlende Vaguswirkung an Sommerfröschen mit der Inkretion der Schilddrüse in ursächlichen Zusammenhang bringen können — den Permeabilitätsgrad direkt beeinflussen. In dieser Richtung hat H. Lange<sup>2)</sup> durch die Bestimmung der Phosphoresäureausscheidung des Muskels in Gegenwart von Adrenalin die hemmende Wirkung dieses Inkretes auf die Permeabilität des Muskels dartun können.

Versuch Nr. 6. *Rana esculenta* ♂. Gewicht jeder Extremität 7 g.

A. NaCl 4,0	}	15,0	B. NaCl 4,0	}	15,0
CaCl <sub>2</sub> 4,0			CaCl <sub>2</sub> 4,0		
Aq. 1000,0			Aq. 1000,0		
NaCl $\frac{n}{s}$ 5,0			KCl $\frac{n}{s}$ 5,0		

Das Verhalten der Erregbarkeit während des Versuches:

- A. 1. Versuchstag 11<sup>h</sup> vorm. Schwelle des M. sartorius bei 300 mm RA.  
 2. Versuchstag 9<sup>h</sup> vorm. Schwelle des M. sartorius bei 90 mm RA.  
 3. Versuchstag 9<sup>h</sup> vorm. M. sartorius sowie die übrige Muskulatur unerregbar.
- B. 1. Versuchstag 11<sup>h</sup> vorm. Schwelle des M. sartorius bei 300 mm RA.  
 2. Versuchsreihe 9<sup>h</sup> vorm. M. sartorius unerregbar. Schwelle des M. tibialis ant. bei 90 mm RA.  
 3. Versuchstag 9<sup>h</sup> vorm. Die gesamte Muskulatur unerregbar.

Der Gehalt der Flüssigkeit an Calcium. Es werden pro 1 ccm Flüssigkeit zur Titration  $\frac{n}{100}$  KMnO<sub>4</sub> verbraucht:

A. 1. 5,80 ccm	B. 1. 5,80 ccm
2. 4,36 ccm	2. 4,44 ccm
3. 3,57 ccm	3. 3,57 ccm

<sup>1)</sup> Kori, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **91**, 130. 1921.

<sup>2)</sup> H. Lange, Zeitschr. f. physiol. Chem. **120**, 249. 1922.

Hieraus berechnet sich der Gehalt der Flüssigkeit an Calcium:

A. 1. 0,1160%	100%	B. 1. 0,1160%	100%
2. 0,0872%	75,1%	2. 0,0888%	76,5%
3. 0,0714%	61,5%	3. 0,0714%	61,5%

*Versuch Nr. 6.* Dieser Versuch wurde unter den gleichen Bedingungen wie Versuch Nr. 5 ausgeführt. Auch hier bewirkt wiederum Kaliumchlorid eine stärkere Herabsetzung der Erregbarkeit. Nach 48 Stunden ist die Muskulatur in *A* und *B* unerregbar geworden. Die Übertragung in 0,7% NaCl-Lösung zeigt jedoch, daß diese Lähmung reversibel ist. Betrachten wir nunmehr die auf titrimetrischem Wege ermittelten Zahlen über die Aufnahme von Calcium, so ergeben sich auch in diesem Versuche nahezu oder völlig identische Zahlen für *A* und *B*. Die Zugabe von Kaliumchlorid hat also keinen Einfluß auf die Permeabilität.

*Versuch Nr. 7.* *Rana esculenta* ♂. Gewicht jeder Extremität 6,5 g.

A. NaCl 5,5	} 15,0 ccm	B. NaCl 5,5	} 15,0 ccm
CaCl <sub>2</sub> 2,0		CaCl <sub>2</sub> 2,0	
Aq. 1000,0		Aq. 1000,0	
NaCl $\frac{n}{8}$ 5,0 ccm		KCl $\frac{n}{8}$ 5,0 ccm	

*Das Verhalten der Erregbarkeit während des Versuches.*

- A. 1. Versuchstag 9<sup>h</sup> 30' vorm. Schwelle des *M. sartorius* 240 mm RA.  
 2. Versuchstag 9<sup>h</sup> 30' vorm. Schwelle des *M. sartorius* 120 mm RA.  
 B. 1. Versuchstag 9<sup>h</sup> 30' vorm. Schwelle des *M. sartorius* 270 mm RA.  
 2. Versuchstag 9<sup>h</sup> 30' vorm. Sämtliche Muskeln unerregbar.

*Der Gehalt der Flüssigkeit an Calcium.* Es werden pro 1 ccm Flüssigkeit zur Titration  $\frac{n}{100}$  KMnO<sub>4</sub> verbraucht:

A. 1. 2,95 ccm	B. 1. 2,97 ccm
2. 2,14 ccm	2. 2,26 ccm

Hieraus berechnet sich der Gehalt an Calcium:

A. 1. 0,0590% Calcium	100%	B. 1. 0,0594% Calcium	100%
2. 0,0428% Calcium	72,5%	2. 0,0452% Calcium	76,0%

*Versuch Nr. 7.* In diesem Versuche wird Calciumchlorid nur in 0,2proz. Lösung angewendet und in *A* mit NaCl, in *B* mit KCl versetzt. Das Verhalten der Erregbarkeit entspricht den früheren Versuchen. Bezüglich der Calciumaufnahme ergibt sich hier sogar eine geringe Hemmung durch KCl. Auch *Vogel*<sup>1)</sup> hat in seinen Versuchen über die Kalilähmung gelegentlich eine Herabsetzung der Permeabilität konstatiert, die in einer Verminderung der ausgeschiedenen Phosphorsäuremenge zum Ausdruck kommt. Wir möchten aber auf die nur geringe Differenz hinsichtlich der Calciumaufnahme in *A* und *B* bei dem Versuch 7 keinen besonderen Wert legen, da in der Mehrzahl der Fälle nahezu völlige Gleichheit in der Permeabilität der Muskeln besteht, wenn zu einer CaCl<sub>2</sub>-Lösung nur NaCl oder NaCl + KCl hinzugefügt wird.

In den bisher geschilderten Versuchen konnte unter bestimmten Bedingungen durch maßanalytische Bestimmung des Calciums in der Außenflüssigkeit der Nachweis für die Permeabilität des Muskels für Calcium erbracht und die Bedeutung bestimmter äußerer Faktoren für die Größe der Calciumaufnahme dargetan werden. Wir suchten dabei die physiologischen Verhältnisse insofern zu wahren, als nur an strukturell intakten und erregbaren Muskeln gearbeitet wurde. Wenn die Erregbarkeit der Muskeln im Verlaufe des Versuches schwand,

<sup>1)</sup> *Vogel*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **118**, 50. 1922.

so daß bei 0 mm Rollenabstand keine Zuckungen ausgelöst werden konnten, so wurde durch die Übertragung der Muskeln in 0,7proz. NaCl-Lösung die Reversibilität der Lähmung bewiesen. Es fragte sich nun, ob auch die Calciumaufnahme durch den Muskel reversibel ist.

*Versuch Nr. 8.* *Rana esculenta* ♂.

Beide hintere Extremitäten des Frosches werden nach der Enthäutung für 10 Stunden (1. Versuchstag vorm. bis 6<sup>h</sup> abends) in 50 ccm NaCl 5,5 gelegt. Das  
CaCl<sub>2</sub> 2,0  
Aq. 1000,0

Gewicht der Extremitäten beträgt 16,0 g. Die Öffnungsschwelle des M. sartorius beträgt 135 mm RA. um 6<sup>h</sup> abends des 1. Versuchstages. Darauf Übertragen des Muskels nach mehrfacher sorgfältiger Abspülung mit 0,7proz. NaCl-Lösung in 50 ccm 0,7proz. NaCl.

Am 2. Versuchstag 9<sup>h</sup> morgens Schwelle des M. sartorius bei 120 mm RA. Zur Titration des Calciumgehaltes von 1 ccm Flüssigkeit wird verbraucht  $\frac{n}{100}$  KMnO<sub>4</sub> 0,94 ccm. Daraus berechnet sich der Gehalt der Flüssigkeit an Calcium zu 0,0188% und als die gesamte abgegebene Calciummenge 9,4 mg.

10<sup>h</sup> vormittags werden die Muskeln abermals in 50 ccm von NaCl 5,5 übertragen.  
CaCl<sub>2</sub> 2,0  
Aq. 1000,0

2<sup>h</sup> nachmittags ist Calcium entsprechend 0,23 KMnO<sub>4</sub> pro ccm., 6<sup>h</sup> nachmittags ist Calcium entsprechend 0,50 KMnO<sub>4</sub> pro ccm aufgenommen worden. Hieraus berechnet sich eine Ca-Aufnahme von 2,3 mg Ca um 2<sup>h</sup> nachmittags und 5,0 mg Ca um 6<sup>h</sup> nachmittags.

*Versuch Nr. 8.* Hierfür konnte durch Versuch 8 ein positiver Beweis erbracht werden. Das Verweilen der Muskulatur während 10 Stunden in einer NaCl + CaCl<sub>2</sub>-Lösung genügt, um nach der Übertragung in Kochsalzlösung eine recht erhebliche Calciummenge (9,4 mg) an diese abzugeben. Die Erregbarkeit des Muskels ist während dieses Versuches nahezu unverändert. Nunmehr wird der Muskel abermals in die calciumhaltige Lösung übertragen. Bereits nach 4 Stunden läßt sich eine deutliche Calciumaufnahme nachweisen. Die aufgenommene Calciummenge beträgt nach 8 Stunden insgesamt 5 mg Ca. Man sieht also, daß die Reversibilität der Calciumaufnahme durch mehrfaches Wechseln calciumfreier mit calciumhaltiger Flüssigkeit an dem gleichen Muskel gezeigt werden kann.

Endlich untersuchten wir noch die Frage, wie lange ein Muskel in einer calciumhaltigen Flüssigkeit liegen muß, bis die Calciumaufnahme maßanalytisch bestimmt werden kann. Wir haben in den meisten Fällen in Abständen von 16—24 Stunden die Calciumaufnahme festgestellt, weil wir zufällig mit Temporarien und Winteresculenten begannen, die hinsichtlich ihrer Permeabilität hinter frisch gefangenen Sommeresculenten zurückstehen. Verwendet man aber letztere zu den Permeabilitätsversuchen, so gelingt es, innerhalb sehr viel kürzerer Zeiten, die Calciumaufnahme nachzuweisen.

*Versuch Nr. 9* *Rana esculenta* ♂. Das Gewicht der Extremität ist 6,7 g.

NaCl 5,5	}	10,0 ccm
CaCl <sub>2</sub> 2,0		
Aq. dest. 1000,0		

Zur Titration von 1 ccm Flüssigkeit wird  $\frac{n}{100}$  KMnO<sub>4</sub> verbraucht.

1. sofort: 3,95 ccm,
2. nach 3 Stunden: 3,29 ccm,
3. nach 24 Stunden: 2,56 ccm.

Hieraus berechnet sich der Gehalt der Flüssigkeit an Calcium:

1.	0,0790%	100%
2.	0,0658%	83%
3.	0,0512%	64,8%

Die absolute Menge des aufgenommenen Calciums beträgt nach 3 Stunden: 1,3 mg Ca, nach 24 Stunden: 2,8 mg Ca.

Pro g Muskel erhält man nach 3 Stunden eine Calciumaufnahme von 0,24 mg Ca, nach 24 Stunden: von 0,518 mg Ca.

*Versuch Nr. 9.* Dieser Versuch zeigt, daß bereits innerhalb 3 Stunden Calcium in nachweisbarer Menge durch den Muskel aufgenommen wird. Man geht hier natürlich von einer möglichst geringen Flüssigkeitsmenge aus, um die Calciumaufnahme titrimetrisch nachweisen zu können. Wir haben dann diese Versuche noch weiter fortgesetzt und fanden, daß bereits nach 1½ Stunden die Calciumaufnahme nachweisbar ist, zu einer Zeit also, in der der Muskel bei Verwendung von NaCl 5,5 als Nährflüssigkeit weder Veränderungen der Erregbarkeit noch CaCl<sub>2</sub> 2,0

Aq. dest. 1000,0

des Gewichtes erkennen läßt. Die Menge des aufgenommenen Calciums in Abhängigkeit von der Dauer des Versuches ist aus Versuch Nr. 10 ersichtlich.

*Versuch Nr. 10.* Rana esculenta ♂. Gewicht der Extremität 4,9 g.

NaCl 5,5	} 12,0 ccm
CaCl <sub>2</sub> 2,0	
Aq. dest. 1000,0	

Zur Titration pro ccm Flüssigkeit wird  $\frac{n}{100}$  KMnO<sub>4</sub> verbraucht:

1. sofort nach Einlegen der Extremität: 3,92 ccm,
2. nach 45 Minuten: 3,89 ccm,
3. nach 90 Minuten: 3,54 ccm.

Hieraus berechnet sich der Gehalt an Calcium:

1.	0,0784%	100%
2.	0,0778%	99,2%
3.	0,0708%	91,5%

Da zu der 1. und 2. Bestimmung je 2 ccm Flüssigkeit zur Titration verwendet wurden, befand sich die Extremität zum Zeitpunkt der 3. Bestimmung in 8 ccm Flüssigkeit. Daraus berechnet sich eine Gesamtaufnahme von 0,56 mg Calcium.

*Versuch Nr. 10.* Man erkennt, daß nach  $\frac{3}{4}$ stündigem Verweilen des Muskels der Calciumgehalt der Nährflüssigkeit völlig unverändert geblieben ist. Nach 1½ Stunden läßt sich zeigen, daß 0,56 mg durch die Muskulatur aufgenommen ist.

In den vorstehend beschriebenen Versuchen wurde bisher ohne weiteres angenommen, daß Calcium durch die Muskulatur aufgenommen wird. Da aber in den meisten Versuchen über die Calciumaufnahme eine ganze hintere Extremität in die Nährflüssigkeit eingelegt wurde, so war es auch denkbar, daß Calcium ganz oder teilweise durch die Knochen und Knorpel der Extremität gebunden würde. Besondere Versuche zeigten aber, daß es bei Verwendung großer Esculenten auch am M. gastrocnemius gelingt, die Calciumaufnahme innerhalb 24 Stunden nachzuweisen. Für kürzere Zeiten (3 Stunden) gelingt dies nicht, offenbar deshalb, weil die Calciumaufnahme in so kurzen Zeiträumen zu gering ist, um analytisch nachweisbar zu werden. Außer-

dem aber haben wir noch Versuche angestellt, ob durch die Knochen der hinteren Extremität des Frosches nach Entfernung der gesamten Muskulatur eine Aufnahme von Calcium erfolgt. Es zeigte sich nun, daß in einem Parallelversuche, in dem die mit Muskulatur versehene Extremität eine deutliche Calciumaufnahme nach 3 Stunden erkennen läßt, die Knochen der anderen Extremität des Frosches diese völlig vermissen lassen. Weitere Versuche, in denen die Knochen mehr als 24 Stunden in der Nährlösung belassen wurden, zeigten eine so geringe Calciumaufnahme, daß sie mit Rücksicht auf die Fehlergrenzen der Methodik als zweifelhaft angesehen werden muß. Diese Versuche führen deshalb zu dem Schlusse, daß, wenn überhaupt unter den gewählten Versuchsbedingungen eine Aufnahme von Calcium durch die Knochen der Extremität erfolgt, diese so gering ist, daß sie vernachlässigt werden darf.

Vergleichen wir unsere Versuchsergebnisse bezüglich des Einflusses von Rohrzucker und Kaliumchlorid auf die durch die Aufnahme von Calciumchlorid gemessene Permeabilität des quergestreiften Muskels mit den Untersuchungen von *Emden* und *Adler*<sup>1)</sup> und *Hans Vogel*<sup>2)</sup>, die als Gradmesser der Permeabilität die Phosphorsäureausscheidung benutzten, so zeigt sich eine sehr bemerkenswerte Übereinstimmung. Mittels beider Methoden konnte der Nachweis erbracht werden, daß durch Rohrzucker eine bedeutende Steigerung der Permeabilität hervorgerufen wird, während Kaliumchlorid die für die Durchlässigkeit maßgebenden Muskelgrenzschichten nicht zu beeinflussen scheint und infolgedessen auch keine Änderung der Permeabilität herbeiführt. Diese Auffassung hat bereits *Vogel* durch weitere Versuche stützen können, in dem er in Übereinstimmung mit den Anschauungen *Siebeck*'s<sup>3)</sup> in der Ringerlösung außerordentlich langsam eintretenden Entlähmung des Muskels nach vorhergehender Einwirkung von Kaliumchlorid den Beweis sieht, daß im Gegensatz zu Rohrzucker die Wirkung von Kaliumchlorid durch Eindringen in die Muskelfibrillen selbst zustande kommt.

Diese Versuche werden wir auch zu berücksichtigen haben, wenn es nunmehr gilt, sich eine Vorstellung über die Aufnahme von Calcium zu bilden. Die Tatsache, daß aus den gewichtsanalytischen Versuchen *Overton*'s<sup>4)</sup>, die wir vollständig bestätigen konnten, die Impermeabilität des Muskels für Calcium in niedrigen Konzentrationen wenigstens innerhalb der ersten Stunden des Versuches gefolgert werden muß, kann mit dem auf maßanalytischen Wege erbrachten Nachweis der Calciumaufnahme durch den Muskel nur

1) *Emden* und *Adler*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **118**, 1. 1922.

2) *Hans Vogel*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **118**, 50. 1922.

3) *Siebeck*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **150**, 316. 1913.

4) *Overton*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **105**, 176. 1904.

dadurch in Einklang gebracht werden, daß eine Bindung des Calciums durch die Muskelgrenzschichten angenommen wird. Betont sei, daß ja eine Calciumbindung schon zu einer Zeit nachgewiesen werden konnte, in der Veränderungen der Erregbarkeit und des Muskelgewichtes noch völlig fehlten (vgl. Versuch Nr. 9 und 10.) Die Bindung in den Muskelgrenzschichten macht es auch verständlich, daß die Größe der Calciumbindung durch Veränderung des Zustandes der Muskelgrenzschichten beeinflußt wird. Eine derartige Änderung — man hätte wohl in erster Linie an eine Dispersitätsvermehrung der Kolloide in den Grenzschichten des Muskels zu denken — muß durch Rohrzucker herbeigeführt werden und äußert sich in der erhöhten Calciumbindung durch den Muskel. Unter den gewählten Bedingungen fehlt diese Wirkung bei Kaliumchlorid. Deshalb ist die Bindung von Calcium in Gegenwart von Kalium trotz der besprochenen Änderung der Erregbarkeit des Muskels die gleiche wie in Gegenwart von Natriumchlorid. Ob die Bindung des Calciums, wofür manches spricht, als eine Adsorption aufgefaßt werden muß, möchten wir vorerst noch nicht entscheiden. Hier werden weitere, zum Teil schon in Angriff genommene Untersuchungen klärend wirken, in denen auch die Aufnahme der übrigen in der Nährflüssigkeit vorhandenen Ionen analytisch untersucht werden wird. Vielleicht werden derartige auch auf andere Ionen ausgedehnte Untersuchungen geeignet sein, unsere Vorstellungen über die Wirkung der Salze zu vertiefen und zu einem weiteren Ausbau einer kolloidchemischen Theorie der Salzwirkung beizutragen, die *Hoerber*<sup>1)</sup> auf die an den verschiedensten Substraten nachgewiesene Gültigkeit der Übergangsreihen<sup>2)</sup> stützen konnte.

#### *Zusammenfassung.*

1. Fügt man zu einer 0,2—0,4 proz.  $\text{CaCl}_2$ -Lösung  $\text{NaCl}$ ,  $\text{MgCl}_2$  oder Rohrzucker hinzu, so daß Isotonie mit 0,7 proz.  $\text{NaCl}$ -Lösung hergestellt wird, so zeigt der *M. gastrocnemius* des Frosches die stärkste Entquellung in Rohrzucker +  $\text{CaCl}_2$ , die geringste in  $\text{MgCl}_2$  +  $\text{CaCl}_2$ , während  $\text{NaCl}$  +  $\text{CaCl}_2$  eine Mittelstellung einnimmt. In  $\text{MgCl}_2$  +  $\text{CaCl}_2$  wird bei relativ geringem  $\text{CaCl}_2$ -Gehalt (0,2—0,3%) sogar eine bedeutende Gewichtszunahme beobachtet. Das relative Verhältnis der Wasseraufnahme durch den Muskel in den drei Lösungen bleibt aber immer bestehen. Die Erregbarkeit schwindet bei gleichem Gehalt an

<sup>1)</sup> *Hoerber*, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 4. Aufl. Leipzig und Berlin 1914, spez. Kap. 10 u. 11.

<sup>2)</sup> Vgl. hierzu die Arbeiten von *Hoerber* (Hämolyse), *Overton* und *Schwarz* (Muskelerrregbarkeit), *Hoerber* (Muskelströme), *Weinland*, *Lillie*, *Hoerber* (Flimmerbewegung), *Gellhorn* (Spermatozoen), *Mathews*, *Grützner*, *Brodsky* (Nerv). (Literatur bei *Hoerber* l. c.)



$\text{CaCl}_2$  am schnellsten in Rohrzucker +  $\text{CaCl}_2$  und am langsamsten in  $\text{MgCl}_2$  +  $\text{CaCl}_2$ , wenn auch anfangs die Erregbarkeitskurve in  $\text{MgCl}_2$  +  $\text{CaCl}_2$  schneller als in  $\text{NaCl}$  +  $\text{CaCl}_2$  sinkt.

2. Die mittels der Methode von *Kramer* und *Tisdall* ausgeführte Calciumbestimmung der Flüssigkeit, in die eine hintere Extremität des Frosches nach Enthäutung gelegt wird, ergibt, daß die Calciumaufnahme durch die Muskulatur aus Rohrzucker +  $\text{CaCl}_2$  in bedeutend stärkerem Maße erfolgt als aus einer Lösung von  $\text{NaCl}$  +  $\text{CaCl}_2$ .

3. Wird zu  $\text{NaCl}$  +  $\text{CaCl}_2$  Kaliumchlorid in einer Menge hinzugefügt, die bereits die Muskeleerregbarkeit in deutlichem Maße herabsetzt, so wird dennoch keine quantitative Änderung in der Calciumaufnahme durch den Muskel herbeigeführt.

4. Es wird in Übereinstimmung mit *Embsen* und *Adler* angenommen, daß die Vermehrung der Permeabilität durch Rohrzucker in einer Änderung des Zustandes der Kolloide in den Muskelgrenzschichten begründet ist. Von diesen wird auch Calcium gebunden. Da Kaliumchlorid unter den erwähnten Bedingungen in die Muskelzellen eintritt, ohne die Grenzschichten zu beeinflussen, so wird auch die Permeabilität für Calcium nicht geändert.

---

# Das Verhalten des Herzstreifenpräparates (nach Loewe) unter verschiedenen Bedingungen.

II. Mitteilung.

## Versuche über den Einfluß von l-, d- und d-l-Adrenalin auf den schlagenden und nichtschlagenden Herzstreifen.

Von

Emil Aberhalden und Ernst Gellhorn.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Halle.)

Mit 27 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. August 1922.)

Es ist bekannt, daß die optischen Komponenten des Adrenalins nicht gleich wirksam sind<sup>1)</sup>. Versuche über den Einfluß von l- und d-Adrenalin auf die Pupillenweite, den Blutdruck und das Verhalten der Körpertemperatur ergaben, daß die in der Natur nicht vorkommende optische Form, nämlich das d-Adrenalin, entweder ganz unwirksam oder aber doch viel weniger wirksam ist als l-Adrenalin. Es schien uns von Interesse, an weiteren Beispielen das unterschiedliche Verhalten der beiden optischen Formen des Adrenalins und seiner Racemform zu prüfen. Es genügt selbstverständlich nicht, festzustellen, daß Unterschiede vorhanden sind. Es liegt in unserem Versuchsplan, festzustellen, worauf das verschiedene Verhalten beruht. Der Möglichkeiten sind mehrere. Man kann zunächst an rein chemische Beziehungen zwischen der Konfiguration des Adrenalins und dem Substrat, auf das es wirkt, denken. Es mehren sich die Beispiele, aus denen hervorgeht, daß Nervenimpulse nicht direkt auf das Erfolgsorgan einwirken, sondern in irgendeiner Weise wirksame Stoffe bereitstellen, die nun ihrerseits den Erfolg, sei es nun eine Muskeltätigkeit oder Sekretion bei einer Drüse, hervorrufen. Das Adrenalin ist vielleicht in ähnlichem Sinn aufzufassen. Es wird von der Marksubstanz der Nebenniere gebildet. Sie stammt vom Nervus sympathicus ab. Vielleicht haben wir in dieser Umwandlung eines nervösen Substrates in ein Organ, das einen Inkretstoff liefert, einen Hinweis auf die Art und Weise, wie auch andere auf Muskel- und Drüsenzellen wirkende Substanzen hervorgebracht werden. Vielleicht bietet die Pars nervosa der Hypophyse

---

<sup>1)</sup> Vgl. die Literatur S. 610.

ein ähnliches Beispiel, wenn die Angaben zutreffen, daß dieser Teil des Gehirnanhanges Inkretstoffe liefert. Es ist naheliegend, anzunehmen, daß alle diese Inkretstoffe in irgendeiner direkten Beziehung zu jenen Substraten stehen, die sie beeinflussen. Neben rein chemischen Beziehungen kommen auch solche physikalisch-chemischer Art in Frage. Es ist denkbar, daß bestimmte Stoffe die Zellgrenzschicht durchdringen können und andere nicht, und daß darauf die Möglichkeit oder Unmöglichkeit einer Einwirkung beruht.

Man muß jedoch auch mit der Möglichkeit rechnen, daß ein bestimmter Stoff ganz verschiedene Wirkungen hervorrufen kann, und zwar vielleicht in der Weise, daß er im Stoffwechsel verändert wird. Wir wissen, daß das Adrenalin außerordentlich leicht Veränderungen erleidet. Eine wäßrige Lösung von Adrenalin färbt sich, je nach der vorhandenen Wasserstoffionenkonzentration, namentlich bei Belichtung, mehr oder weniger rasch rot. Es ist bekannt, daß Adrenalin in der Blutbahn Veränderungen erleidet. Es wird sehr leicht oxydiert. Es ist wohl möglich, daß die entstehenden Produkte besondere Wirkungen haben. Ja es ist denkbar, daß manche dem Adrenalin zugeschriebene Wirkung nicht ihm selbst, sondern einem Umwandlungsprodukt zukommt. Unsere Bemühungen waren darauf gerichtet, wohl definierte Oxydationsprodukte aus Adrenalin zu gewinnen, um an ihrer Hand zu prüfen, welche Wirkungen sie entfalten. Es ist uns bis jetzt jedoch nicht gelungen, Oxydationsprodukte mit bekannter Struktur zu isolieren. Es beschäftigte uns ferner die bekannte Tatsache, daß Adrenalin in Plasma gelöst wirksamer ist, als in wäßriger Lösung. Wir haben ferner festgestellt, daß es seine Wirkung in Plasma oder Serum gelöst länger beibehält, als in wäßriger Lösung. Offenbar beruht diese Erscheinung darauf, daß die Oxydation des Adrenalins in Plasma bzw. Serum gehemmt wird. Nun wissen wir, daß Adrenalin, das in eine Vene eingespritzt wird, im arteriellen Kreislauf entweder gar nicht mehr oder doch in stark herabgesetzter Menge nachweisbar ist. Es verschwindet somit das Adrenalin nach kurzer Zeit im Blut. Es ist von großem Interesse, dieser Erscheinung nachzugehen: Wird Adrenalin im Blut selbst verändert, oder geht es in das Gewebe über? Handelt es sich bei einer eventuellen Veränderung des Adrenalins um einen umkehrbaren oder aber um einen nichtumkehrbaren Vorgang? Es wäre denkbar, daß Adrenalin vorübergehend in seiner Wirkung durch irgendeine Veränderung ausgeschaltet und dieser Vorgang je nach Bedarf rückgängig gemacht werden könnte. Mit allen diesen Problemen haben wir uns zum Teil schon beschäftigt; zum Teil wollen wir ihnen bei weiterer Untersuchung nachgehen und gleichzeitig prüfen, ob in irgendeiner Beziehung sich Unterschiede im Verhalten von l- und d-Adrenalin aufdecken lassen.

### Experimenteller Teil.

#### I. Die Wirkung des Adrenalins auf den schlagenden Herzstreifen.

Die erste Frage, die wir uns stellten, galt der Ermittlung des Schwellenwertes von l-, d- und d-l-Adrenalin für den schlagenden Herzstreifen. Obwohl bereits durch eine Reihe älterer Untersuchungen von *Gottlieb*<sup>1)</sup>, *Oliver* und *Schäfer*<sup>2)</sup> und anderen Autoren die Herzwirkung des Adrenalins genau analysiert wurde, so fehlen doch gerade Untersuchungen über die wirksame Minimaldosis. Es liegt dies wohl daran, daß in den Versuchen der erwähnten Autoren mit Nebennierenextrakten, die eine genaue Dosierung nicht zulassen, gearbeitet wurde, da die Konstitution und Synthese des Adrenalins noch unbekannt war. Später sind dann die Schwellenwerte für die Blutdruck- und die Gefäßwirkung in zahlreichen Arbeiten festgestellt worden, da gerade diese Methoden [Blutdruckversuch, *Laewen-Trendelenburgs*<sup>3)</sup> Präparat und *O. B. Meyers*<sup>4)</sup> Arterienstreifen sowie der Versuch am enucleierten Froschauge nach *Ehrmann*<sup>5)</sup> sich als besonders geeignet erwiesen, Adrenalin in minimalen Dosen nachzuweisen. Weiterhin konnte in den Untersuchungen von *Cushny*<sup>6)</sup> sowie *Abderhalden* mit *Thies*<sup>7)</sup>, *Franz Müller*<sup>8)</sup> und *Slavu*<sup>9)</sup> gezeigt werden, daß zwischen der Wirksamkeit von d, d-l- und l-Adrenalin sehr bedeutende Unterschiede bestehen. In Blutdruckversuchen am Warmblüter erwies sich d-Adrenalin als etwa 15 mal unwirksamer als l-Adrenalin, und ebenso mußten erheblich höhere Dosen von d-Adrenalin als von l-Adrenalin subcutan am Kaninchen injiziert werden, damit eine Glykosurie hervorgerufen wurde. Auch in Versuchen am enucleierten Froschbulbus ist die mydriatische Wirkung von d-Adrenalin nur sehr gering, während bekanntlich l-Adrenalin noch in sehr geringen Konzentrationen wirksam ist. Endlich konnte noch an der Maus gezeigt werden, daß bereits 0,0001 g l-Adrenalin an etwa 12—14 g schweren Versuchstieren unter starker Temperatursenkung innerhalb 20—30 Minuten den Tod herbeiführt, während die zehnfach höhere Dosis von d-Adrenalin nur eine verhältnismäßig geringe Temperaturabnahme zur Folge hat, von der sich das Tier spontan wieder erholt. Es fragte sich nun, ob auch am Herzstreifen entsprechende Unterschiede zwischen d- und l-Adrenalin be-

<sup>1)</sup> *R. Gottlieb*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **38**, 99; **43**, 286.

<sup>2)</sup> *Oliver* und *Schäfer*, Journ. of physiol. **18**, 230. 1895.

<sup>3)</sup> *Laewen*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **51**, 415. 1914; *Trendelenburg*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **63**, 161. 1910.

<sup>4)</sup> *O. B. Meyer*, Zeitschr. f. Biol. **48**, 353. 1906.

<sup>5)</sup> *Ehrmann*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **53**, 97. 1905.

<sup>6)</sup> *A. Cushny*, Journ. of physiol. **37**, 130. 1908.

<sup>7)</sup> *E. Abderhalden* und *Fr. Thies*, Zeitschr. f. physiol. Chemie **59**, 22. 1909.

<sup>8)</sup> *E. Abderhalden* und *Franz Müller*, Zeitschr. f. physiol. Chemie **58**, 185. 1908.

<sup>9)</sup> *E. Abderhalden* und *Slavu*, Zeitschr. f. physiol. Chemie **59**, 129. 1909.

stehen, und ob auch hier d-l-Adrenalin hinsichtlich seiner Wirksamkeit zwischen d- und l-Adrenalin steht.

Erwähnt sei, daß die Reinheit der Adrenalinpräparate (*Höchst*) durch die Prüfung des optischen Verhaltens nachgewiesen wurde. Zu unseren Versuchen wurden, wenn nicht anders bewertet, nur wäßrige Lösungen der Adrenalinbase verwendet, die stets kurz vor dem Versuch frisch hergestellt waren. Bezüglich der Versuchsanordnung sei auf unsere frühere Mitteilung<sup>1)</sup> verwiesen.

Abb. 1—3 geben Versuche am Kammerlängsstreifen des Frosches wieder. Man erkennt, daß mit l-Adrenalin bereits in einer Verdünnung von 1:15 Millionen eine deutliche Pulsvergrößerung erzielt wird. Mit der gleichen Dosis von d-l-Adrenalin (Abb. 2) ist keine deutliche Veränderung der Pulsgröße zu erkennen. Es genügt aber, die gleiche Dosis noch einmal zu geben, um eine positiv-inotrope Wirkung zu erhalten. Die Schwellenkonzentration von d-Adrenalin liegt aber, wie der Versuch der Abb. 3 zeigt, zehnmal so hoch wie bei l-Adrenalin (1:1,5 Millionen). Aus diesen Versuchen geht also hervor, daß

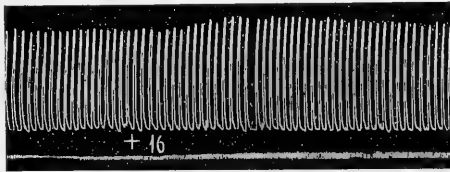


Abb. 1. Kammerlängsstreifen. Bei +16 l-Adrenalin 1:15 Millionen.

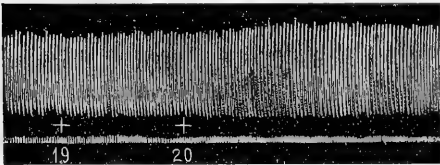


Abb 2. Das gleiche Präparat wie in Abb. 1. Bei +19 Adrenalin d-l 1:15 Millionen. +20 Adrenalin d-l 1:15 Millionen.

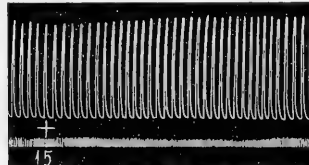


Abb. 3. Das gleiche Präparat wie in Abb. 1. Bei +15 d-Adrenalin 1:1500000.

d-l-Adrenalin nur durch seinen Gehalt an l-Adrenalin wirkt und deshalb in der doppelten Dosis wie l-Adrenalin wirksam ist. Es handelt sich bei Feststellung dieser Schwellenwerte natürlich um optimale Befunde. Ist ein Präparat durch Sauerstoffmangel oder die Einwirkung bestimmter Gifte geschädigt, so bedarf es einer größeren Adrenalindosis, um eine Pulsvergrößerung herbeizuführen. Das relative Verhältnis von l- zu d-Adrenalin bleibt aber sehr konstant. Man erkennt dies z. B. aus den Abb. 4 und 5, in denen eine deutliche Adrenalinwirkung erst bei der doppelten Konzentration eintritt. Auch hier ist l-Adrenalin etwa zehnmal wirksamer als d-Adrenalin. Die Untersuchungen zeigen also auch bezüglich der Herzwirkung des Adrenalins eine sehr gute

<sup>1)</sup> E. Abderhalden u. E. Gellhorn, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **183**, 303. 1920.

Übereinstimmung mit den obenerwähnten Ergebnissen über die Blutdruckwirkung.

Weiterhin erkennt man aus den Abbildungen, daß die Wirkung des Adrenalins in Schwellenkonzentrationen nur flüchtig ist; denn nach kurzdauernder Pulsvergrößerung wird wieder die ursprüngliche Kontraktionsgröße erreicht. Daß eine gewisse Unabhängigkeit der inotropen von der chronotropen Wirkung besteht, ist auch bereits von anderen Autoren<sup>1)</sup> hervorgehoben worden. Wir finden im allgemeinen, daß am Herzstreifen die positiv inotrope Wirkung deutlicher

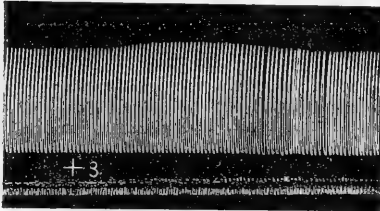


Abb. 4. Kammerlängsstreifen. Bei +3 l-Adrenalin 1:7,5 Millionen.

als die Beeinflussung der Schlagfolge hervortritt.

Nachdem die Schwellenwerte für die Adrenalinwirkung am Herzstreifen ermittelt waren, galt eine Reihe weiterer Versuche der Untersuchung des Wirkungsbildes des Adrenalins, wenn überschwellige Konzentrationen verwendet werden. Es interessiert nicht allein, zu er-

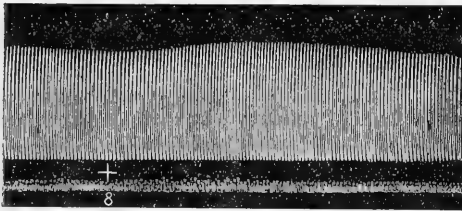


Abb. 5. Das gleiche Präparat wie in Abb. 4. Bei +8 d-Adrenalin 1:750 000.

fahren, in welcher Weise sich die positiv-inotrope Wirkung mit wachsender Konzentration ändert, sondern vor allem, ob und in welchem Grade die Flüchtigkeit der Adrenalinwirkung ein anderes Verhalten zeigt. Zu diesem Zwecke wurden an einem

Herzkammerlängsstreifen

Versuche mit l-Adrenalin (Base!) in Konzentrationen von 1:5 000 000 bis 1:50 000 ausgeführt und auch 5 und 10 Minuten nach Zugabe des Adrenalins die Kurve der Tätigkeit des Herzstreifens aufgezeichnet. Dann erst erfolgte der Wechsel der Nährlösung.

Aus Abb. 6 geht hervor, daß Adrenalin 1:5 000 000 ebenso wie die Schwellendosis nur eine vorübergehende Pulsvergrößerung bewirkt. Bereits 5 Minuten später ist die ursprüngliche Größe der Kontraktionen wieder erreicht. Von einer Veränderung der Frequenz ist nichts zu bemerken. Auch nach weiteren 5 Minuten sind Frequenz und Kontraktionsgröße die gleiche geblieben. Eine etwas andere Wirkung zeigt sich im Versuch der Abb. 7, in dem Adrenalin 1:1 000 000 untersucht wurde. Auch hier ist die positiv-inotrope Änderung der Kontraktionen nach 5 Minuten bereits abgeklungen; dagegen tritt jetzt eine

<sup>1)</sup> F. Harries, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 6, 301. 1918.

deutliche Pulsverlangsamung hervor. Weitere 5 Minuten später hat diese noch eine Zunahme erfahren, und hieran wird auch durch Erneuerung der Ringerschen Flüssigkeit nichts geändert.

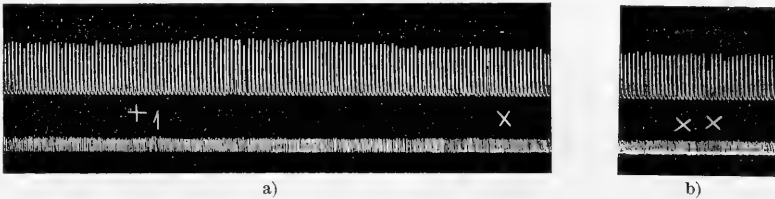


Abb. 6—9. Kammerlängsstreifen. Zwischen den einzelnen Abbildungen stets Wechsel der Ringerschen Flüssigkeit.

Abb. 6 a u. b. a) Bei + 1l-Adrenalin 1:5 Millionen. Bei × 5 Minuten später. b) ×× Weitere 5 Minuten später.

Es fragt sich nun, ob auch die negativ-chronotrope Wirkung als charakteristisch für Adrenalin anzusehen ist. Ist doch z. B. von *Harries*<sup>1)</sup> auch gelegentlich eine Verminderung der Schlagfolge nach Adrenalin-gaben beobachtet worden. Bevor wir hier zu dieser Frage Stellung

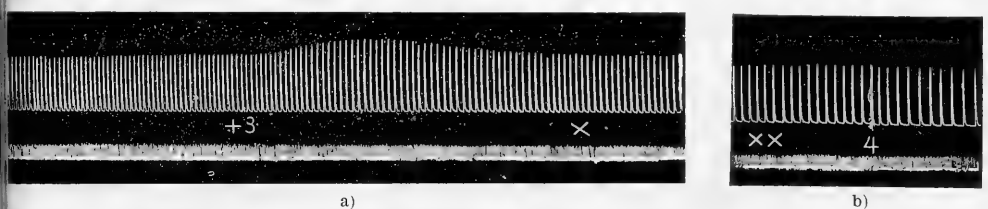


Abb. 7a u. b. Das gleiche Präparat wie in Abb. 6. a) Bei +3 l-Adrenalin 1:1 Million. Bei × 5 Minuten später. b) Bei ×× weitere 5 Minuten später. Bei 4 Wechsel der Ringerschen Flüssigkeit.

nehmen, wollen wir erst die Adrenalinwirkung an demselben Herzstreifen noch bei Verwendung größerer Adrenalinkonzentrationen verfolgen. Um das Herzstreifenpräparat, dessen Frequenz stark ab-

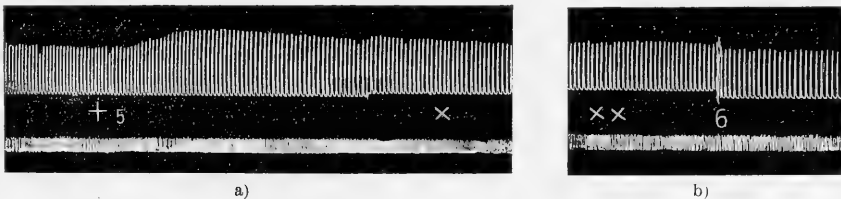


Abb. 8a u. b. Das gleiche Präparat wie Abb. 6. a) Bei +5 l-Adrenalin 1:250000. Bei × 5 Minuten später. b) ×× Weitere 5 Minuten später. Bei 6 Wechsel der Ringerschen Flüssigkeit.

genommen hatte, wieder in den optimalen Zustand zurückzusetzen, wurde der Ringerlösung 0,01 g  $\text{BaCl}_2$  für 2 Minuten hinzugefügt und darauf die Nährflüssigkeit erneuert. Nunmehr schlägt der Herzstreifen frequent und regelmäßig (Abb. 8) und zeigt auf Adrenalin 1:250 000 eine

<sup>1)</sup> *F. Harries*, l. c.

Pulsvergrößerung, die nach 5 Minuten, wenn auch nicht vollständig, so doch zum größten Teile bereits zurückgegangen ist. Nach weiteren 5 Minuten wird die ursprüngliche Pulsgröße registriert. In diesem



Abb. 9 a bis e. Das gleiche Präparat wie Abb. 6, a) Bei + 7 l-Adrenalin 1 : 50 000. × 5 Minuten später. b) × × 10 Minuten später. × × 15 Minuten später. c) 25 Minuten später. d) 35 Minuten später. e) 45—60 Minuten später.

Versuche ist nur eine sehr geringe Frequenzabnahme durch Adrenalin hervorgerufen worden. Endlich ist in Abb. 9 der Einfluß von l-Adrenalin 1 : 50 000 wiedergegeben. War schon in dem Versuche, der der



Abb. 8 zugrundeliegt, die Dauer der Adrenalinwirkung etwas größer als bei Verwendung noch schwächerer Lösungen, so gilt dies in besonders hohem Maße von diesem Versuche. Hier zeigt sich nämlich, daß die Pulsvergrößerung fast unvermindert 25 Minuten hindurch anhält. Aber selbst nach 45 Minuten sind die Kontraktionen noch größer als zu Beginn des Versuches. Dann erst setzt eine rasch zunehmende Verkleinerung der Schlaggröße ein. Auch bezüglich der Frequenz ergeben sich bedeutende Änderungen. Zu Beginn der Adrenalinwirkung ist die Abnahme der Schlagfolge nur sehr gering, je länger aber die Adrenalinwirkung andauert, um so stärker tritt sie hervor, so daß zu einem Zeitpunkte, an dem die Pulsvergrößerung noch unvermindert besteht, die Frequenz bereits um mehr als 50% abgenommen hat. Am Ende des Versuches, nach Einwirkung von Adrenalin während 55 Minuten, besteht eine deutliche Pulsverkleinerung mit starker Ab-

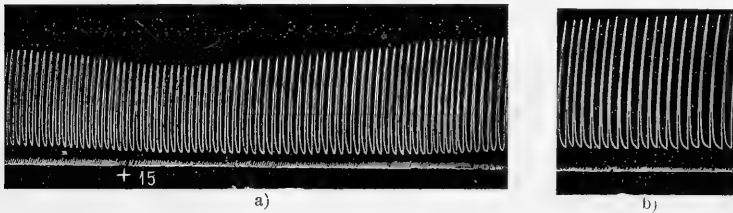


Abb. 10 a u. b. Kammerlängsstreifen. a) Bei +15 d-Adrenalin 1:250000. b) 10 Minuten später.

nahme der Frequenz. Endlich nimmt die Herztätigkeit die Form des Pulsus alternans an. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß mit steigender Konzentration des Adrenalins die Dauer der positiv-inotropen Wirkung zunimmt. In stärkeren Dosen stellt sich außerdem eine Abnahme der Pulsfrequenz ein, die aber besonders in mittleren Konzentrationen (1:250 000) in hohem Maße von dem Zustande des Herzstreifenpräparates abhängig ist. Sie ist um so stärker, je länger der Herzstreifen vor der Adrenalingabe schlägt und kann deshalb durch vorübergehende Einwirkung von  $\text{BaCl}_2$ , das den Herzstreifen wiederum zu einer regelmäßigen und frequenten Schlagtätigkeit führt, auf ein Minimum reduziert werden. In großen Dosen (1:50 000) wird sie aber auch unter optimalen Bedingungen fast nie vermißt. Die außerordentlich starke Abnahme der Frequenz und der Pulsgröße bei sehr langer Einwirkung von Adrenalin dürfte aber seine Ursache in der Entstehung von Oxydationsprodukten haben, deren Bildung durch die Rötung der Nährflüssigkeit angezeigt wird. Offenbar sind diese erst in stärkeren Konzentrationen wirksam. Daher vermissen wir auch die Pulsverlangsamung bei Verwendung kleinster Adrenalingaben.

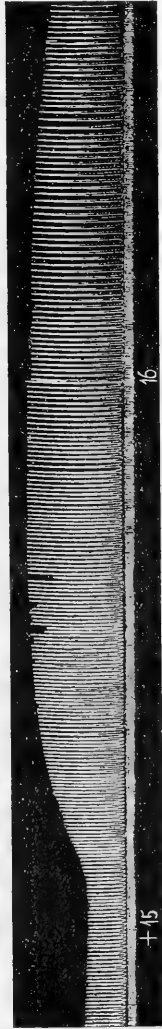
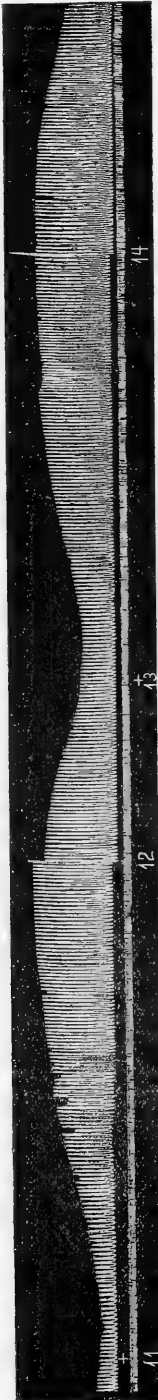


Abb. 11a und b. Kammerlängsstreifen. a) Bei + 11 d-Adrenalin 1:250000, 12 Wechsel der Ringerschen Flüssigkeit, 13 Wechsel der Ringerschen Flüssigkeit b) 15 d-Adrenalin 1:62500 16 Wechsel der Ringerschen Flüssigkeit.

Durch entsprechende Versuche mit d-Adrenalin konnte gezeigt werden, daß ebenso wie bei dem Vergleich der Schwellenwerte auch in höheren Konzentrationen das d-Adrenalin ein verkleinertes Abbild der l-Adrenalinwirkung erzeugt. Daß auch das d-Adrenalin in mittleren Konzentrationen Verminderung der Pulsfrequenz verursacht, wird durch Abb. 10 (s. vorige Seite) belegt.

Die Nachhaltigkeit der Adrenalinwirkung in stärkeren Konzentrationen läßt sich aber noch auf eine andere Weise prüfen. Da das Wirkungsbild des Adrenalins durch die Bildung noch unbekannter Oxydationsprodukte kompliziert wird, die teilweise, wenn der Herzstreifen längere Zeit in der Adrenalinlösung verbleibt, anders auf den Herzstreifen als das Adrenalin selbst einwirken, so scheint es zweckmäßig, festzustellen, ob Adrenalinlösungen verschiedener Konzentration sich etwa dadurch unterscheiden, daß die Pulsvergrößerung in Abhängigkeit von der vorher angewandten Konzentration verschieden lange Zeit auch nach Wechsel der Nährflüssigkeit anhält. Eine derartige Versuchsanordnung erscheint um so notwendiger, als bei dem direkten Vergleich der Wirkung von Adrenalinlösungen

mittlerer oder starker Konzentration Unterschiede hinsichtlich der Größe der positiv-inotropen Wirkung nicht deutlich hervortreten. Abb. 11a und b mag dies an einem Beispiel erläutern. Man erkennt, daß

d-Adrenalin in den Konzentrationen 1 : 250 000; 1 : 125 000 und 1 : 62 500 stets eine starke inotrope Wirkung besitzt. Die Latenzzeit bis zum Eintritt der Wirkung ist in allen Versuchen etwa gleich. Auch hinsichtlich der Stärke der inotropen Wirkung ist es schwierig, sichere Unterschiede aufzuweisen, da die Pulsgröße vor der Anwendung des Adrenalins in den drei Versuchen verschieden ist, obwohl die Versuche an dem gleichen Präparate im Verlaufe etwa einer Stunde ausgeführt wurden. In einer Hinsicht ergibt sich aber ein bedeutender Unterschied gegenüber den schwachen Adrenalinlösungen. Zunächst fällt auf, daß die Pulsgröße, solange die Adrenalinlösung nicht mit frischer Ringerlösung vertauscht wird, keine Verminderung ihrer maximalen Größe zeigt. Die Adrenalinwirkung ist also infolge der stärkeren Konzentration andauernder geworden. Wechselt man aber die Nährflüssigkeit, so sieht man die Pulsgröße sich allmählich verringern. Hier aber zeigt sich, daß auf die Zeit, in der die ursprüngliche Pulsgröße wieder erreicht wird, die Konzentration des vorher angewandten Adrenalins maßgebend ist. Man erkennt nämlich, daß mit steigender Adrenalin-konzentration die Nachwirkung von Adrenalin auch nach Wechsel der Nährflüssigkeit zunimmt. So zeigt die erste Kurve etwa 3 Minuten nach dem Wechsel der Ringerlösung eine Abnahme der Pulsgröße um fast 50%, die zweite Kurve (Adrenalin 1 : 125 000) zum gleichen Zeitpunkt nur eine sehr geringe Abnahme, an der dritten Kurve endlich ist erst viel später eine Verminderung der Pulsgröße zu erkennen.

Die Versuchsanordnung, in der die Dauer der Adrenalinwirkung nach Wechsel der Nährflüssigkeit als Indicator für ihre Stärke gewählt wird, mußte auch geeignet sein, die Unterschiede zwischen l- und d-Adrenalin darzutun. Auf Grund der ungleichen Schwellen für l- und für d-Adrenalin mußte gefolgert werden, daß, wenn beide Präparate in der gleichen, überschwelligeren Dosis angewendet werden, auch bedeutende Unterschiede in der Nachhaltigkeit der Wirkung sich ergeben würden. Es müßte sich dann eben l-Adrenalin wie eine bedeutend stärker konzentrierte Lösung von d-Adrenalin verhalten. Das ist nun in der Tat der Fall. Wir haben zu diesem Zweck Versuche an der Herzspitze angestellt. Frühere Untersuchungen<sup>1)</sup> haben gezeigt, daß es an der Herzspitze gelingt, durch vorübergehende Einwirkung von BaCl<sub>2</sub> eine bestimmte Zeit hindurch die Schlagtätigkeit anzuregen und zu erhalten. In Abb. 12 wird nun bei 10 zu der Nährflüssigkeit, in der sich die Herzspitze von *Rana esculenta* befindet, Adrenalin d-hydrochlor. 1 : 50 000 hinzugefügt. Es tritt hierauf eine deutliche positiv inotrope und positiv chronotrope Wirkung auf. Entsprechend

<sup>1)</sup> E. Abderhalden und E. Gellhorn, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **183**, 314. 1920.

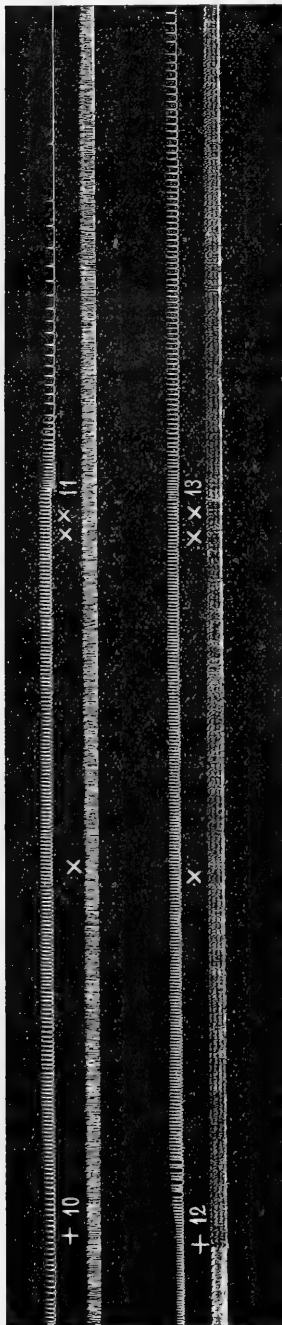


Abb. 12. Herzspitze, *Rana esculenta*. Obere Reihe: Bei + 10 d-Adrenalin, hydrochlor. 1 : 50 000,  $\times$  5 Minuten später,  $\times$  10 Minuten später, 11 Wechsel der Ringerschen Flüssigkeit. Untere Reihe: Bei + 12 l-Adrenalin, hydrochlor. 1 : 50 000,  $\times$  5 Min. später,  $\times$  10 Min. später, 13 Wechsel der Ringerschen Flüssigkeit.

der hohen Dosis bleibt die Vergrößerung der Kontraktionen innerhalb 10 Minuten unverändert erhalten. Jetzt wird die Nährlösung gewechselt. Kurz darauf nimmt die Pulsfrequenz sehr stark ab und nach etwa 5 Minuten ist die Automatie des Herzstreifens erloschen. Nachdem diese durch kurzdauernde Zugabe von  $\text{BaCl}_2$  wiederhergestellt und die Nährlüssigkeit abermals erneuert war, wird nun die Automatie des Herzstreifens in der gleichen Weise untersucht, nur daß an Stelle von d-Adrenalin l-Adrenalin-hydrochlor. in der gleichen Dosis (1 : 50 000) der Ringerschen Flüssigkeit bei 12 hinzugesetzt wird. Da in beiden Fällen hohe Konzentrationen angewendet werden, ist ein Unterschied in der Stärke der Wirkung nicht zu erkennen. Als aber nach 10 Minuten die Nährlüssigkeit ersetzt wird, tritt nunmehr ein deutlicher Unterschied zwischen d- und l-Adrenalin hervor. Die Automatie des Herzstreifens bleibt nämlich nach Vorbehandlung mit l-Adrenalin mehr als die doppelte Zeit erhalten.

*Zusammenfassend ergibt sich daher, daß mit Rücksicht auf die Schwellenkonzentration dem l-Adrenalin eine zehnfach stärkere Wirksamkeit als dem d-Adrenalin zukommt. Dieser Unterschied kann auch bei Verwendung überschwelliger Konzentrationen dadurch erwiesen werden, daß die Dauer der Automatie der Herzspitze nach vorübergehender Vorbehandlung mit l-Adrenalin länger währt, als wenn die gleiche Konzentration von d-Adrenalin zur Anwendung kommt.*

Endlich wurde noch eine Versuchsreihe angestellt, die entscheiden

sollte, ob die Adrenalinwirkung an den verschiedenen Teilen des Froschherzens Unterschiede zeigt. Zu diesem Zweck wurden aus demselben Ventrikel ein Längsstreifen, der von der Atrioventrikulargrenze bis zur Herzspitze reicht, und ein sehr kleiner Streifen aus der Muskulatur der Herzspitze ausgeschnitten und in derselben Nährflüssigkeit suspendiert. Abb. 13 zeigt zwei derartige Präparate von *Rana esculenta* und läßt erkennen, daß 1-Adrenalin 1 : 5 000 000 ebenso an dem „ganglienzellreichen“ Längsstreifen (obere Kurve) wie an der „ganglienzellfreien“ Herzspitze (untere Kurve) zu einer Vergrößerung der Kontraktionen führt. Auch in einer Reihe weiterer Versuche konnten keine Unterschiede zwischen den genannten Präparaten festgestellt werden.

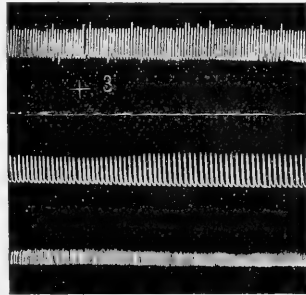


Abb. 13. Obere Reihe: Kammerlängsstreifen, untere Reihe: Herzspitze desselben Herzens. +3 l-Adrenalin 1 : 5 Millionen.

Es ist oben darauf hingewiesen worden, daß in hohen Konzentrationen l-Adrenalin auch bei kurzdauernder Einwirkung eine Pulsverlangsamung bewirkt. Diese hängt, wie erwähnt, im wesentlichen von dem Zustand des Präparates ab. Je mehr der Herzstreifen durch Sauerstoffmangel, Einwirkung von Giften usw. geschädigt ist, um so stärker wird die Verlangsamung. Dabei fehlt eine Verminderung der positiv-inotropen Wirkung. Dies zeigt z. B. Abb. 14 besonders deutlich. Es gelingt nun durch Atropin die Pulsverlangsamung zu verhindern. Abb. 15 stammt von dem gleichen Herzstreifen wie Abb. 14.

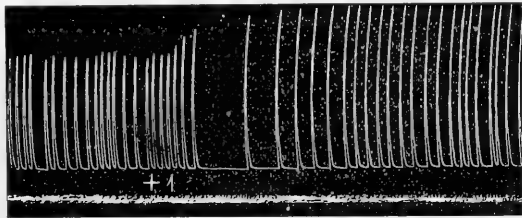
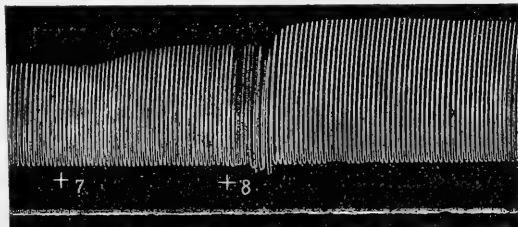


Abb. 14. Kammerlängsstreifen. Bei +1 l-Adrenalin 1 : 50 000.



Bei +7 wird der Ringelösung Atropin sulfur. 1 : 50 000 hinzugefügt. Hierdurch wird eine Vergrößerung der Kontraktionen ausgelöst. Kurz darauf (8) wird l-Adrenalin 1 : 50 000 gegeben. Die Kontraktionen nehmen noch weiter an Größe zu, eine

Abb. 15. Kammerlängsstreifen, das gleiche Präparat wie in Abb. 14. Bei +7 Atropin sulfur. 1 : 50 000. Bei +8 l-Adrenalin 1 : 50 000.

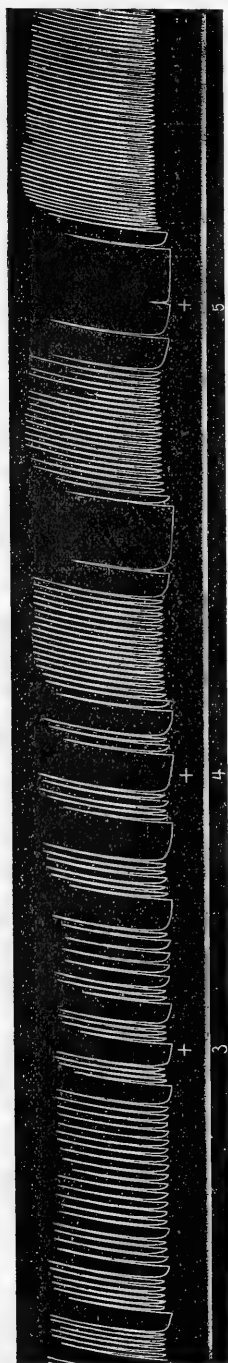


Abb. 16. Kammerlängsstreifen. Bei + 3 I-Adrenalin 1 : 1 250 000, + 4 dasselbe, + 5 I-Adrenalin 1 : 500 000.

Verminderung der Frequenz fehlt fast vollständig. Daraus dürfte der Schluß berechtigt sein, daß Adrenalin in großen Dosen durch Reizung der vagalen Endapparate eine Pulsverlangsamung erzeugt, ein Befund, der insofern von Interesse ist, als vor kurzem *Kolm* und *Pick*<sup>1)</sup> durch Vorbehandlung mit Acetylcholin, Muscarin und anderen Giften eine „vagtropische“ Wirkung des Adrenalins nicht allein am Froschherzen, sondern auch an den Gefäßen und am Magen-Darmtractus nachweisen konnten. Übrigens hat *J. Machiela*<sup>2)</sup> durch Adrenalin auch in schwachen Dosen (1 : 5 000 000 Pulsverlangsamung und diastolischen Stillstand am Herzstreifen hervorrufen können, wenn vorher, ähnlich wie in den Versuchen von *Kolm* und *Pick*, die vagalen Endapparate durch Pilocarpin sensibilisiert worden waren.

Bereits in der Mitteilung von *Harries*<sup>3)</sup> findet sich die Angabe, daß auch an Herzstreifen, die in *Luciani*schen Perioden schlagen, die fördernde Wirkung des Adrenalins zum Ausdruck kommt, indem die einzelnen Perioden häufiger werden und auch die Kontraktionen an Größe zunehmen. Ebenso ist ihm auch die Umwandlung *Luciani*scher Perioden in reguläre Herzstätigkeit durch Adrenalin gelungen. Es interessierte uns nun die Frage, welche Konzentrationen von Adrenalin notwendig sind, um die periodische Schlagtätigkeit in eine reguläre umzuwandeln. In diesen Versuchen wurde ganz allgemein das Resultat erhalten, daß hierzu erheblich höhere Konzentrationen notwendig sind, als solche, die eine deutlich fördernde Wirkung am regulär schlagenden Herzstreifen besitzen. Dies geht sehr deutlich aus Abb. 16 hervor. Es handelt

<sup>1)</sup> *R. Kolm* und *E. P. Pick*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **184**, 79. 1920.

<sup>2)</sup> *J. Machiela*, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **14**, 287. 1921.

<sup>3)</sup> *F. Harries*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **6**, 301. 1918.

sich in diesem Versuche um einen Kammerlängsstreifen, der eine sehr unregelmäßige Tätigkeit zeigt. Es folgen *Luciani*sche Perioden von verschiedenster Frequenz in unregelmäßigen Abständen aufeinander. Hieran vermag l-Adrenalin 1 : 1 250 000 nichts zu ändern, obwohl diese Dosis sonst regelmäßig Pulsvergrößerung hervorruft. Die abermalige gleiche Dosis (+4) ändert den

Rhythmus der Perioden im Sinne einer Verlängerung der einzelnen Schlagperioden. Es bedurfte aber noch einer weiteren Adrenalin-gabe (1 : 500 000), um völlige Regularität der Schlagfolge herbeizuführen.

Immerhin ist die Eigenschaft eines periodisch schlagenden Herzstreifens, trotz Adrenalin-gaben in seiner unregelmäßigen Tätigkeit zu verharren, bei den verschiedenen Präparaten in sehr ungleichem Maße vorhanden. Je stärker ein Herzstreifen durch Gifte oder Sauerstoffmangel geschädigt

ist und in der Form *Luciani*scher Perioden schlägt, um so größer muß die Adrenalin-konzentration sein, um die regelmäßige Schlagfolge wieder herzustellen. Abb. 17 zeigt, daß auch d-Adrenalin in stärkerer Dosis wirksam ist. Die Regularisierung der Herztätigkeit hält in diesem Versuche, wie die Abbildung zeigt, auch nach Wechsel der *Ringers*chen Flüssigkeit an. Wird übrigens

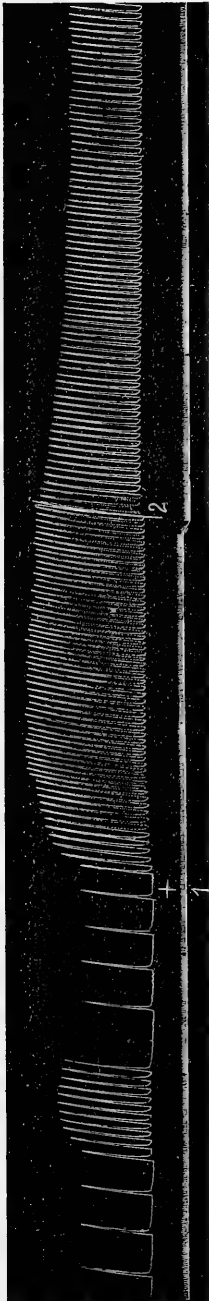


Abb. 17. Kammerlängsstreifen. Bei + 1 d-Adrenalin 1 : 250 000, 2 Ringer.

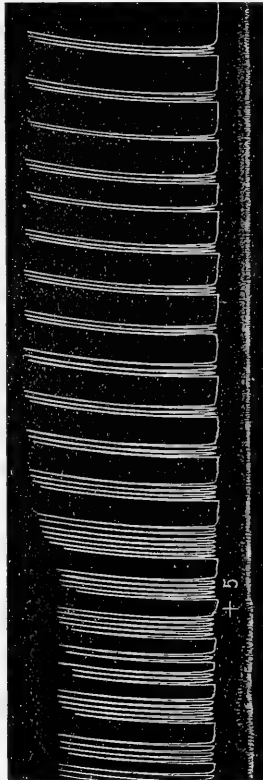


Abb. 18. Kammerlängsstreifen. d-Adrenalin 1 : 500 000.

d-Adrenalin in sehr hohen Konzentrationen (1:50 000) angewendet, so beobachtet man gelegentlich auch eine Verminderung der Schlagperiode, wie aus Abb. 18 hervorgeht. Gleichzeitig ist aber eine deutliche positiv-inotrope Wirkung eingetreten so daß in diesem Falle die Adrenalinwirkung am periodisch schlagenden Streifen mit der am regelmäßig tätigen "Herzstreifen übereinstimmt.

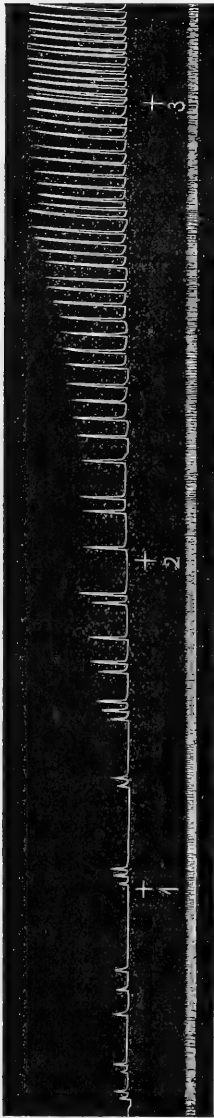


Abb. 19. Kammerlängsstreifen. Bei + 1 d-Adrenalin, hydrochlor. 1:250 000, + 2 d-Adrenalin hydrochlor. 1:100 000, + 3 Wechsel der Ringerschen Flüssigkeit.

Wie sehr es aber auch hier auf den Zustand des Präparates ankommt, lehrt der Versuch in Abb. 19. Obwohl hier eine recht hohe Dosis von d-Adrenalin an einem nur schwach und unregelmäßig schlagenden Kammerstreifen angewendet wird, so treten doch nur die fördernden (positiv inotropen und positiv chronotropen) Wirkungen hervor. Gleichzeitig sei die Abbildung ein Beispiel dafür, wie starke Veränderungen auch d-Adrenalin an einem stark geschädigten Präparate verursachen kann.

## II. Die Wirkung von Adrenalin auf den nicht schlagenden Herzstreifen.

In einer mehrfach erwähnten Abhandlung berichtet *Harries* auch über Versuche, den stillstehenden Herzstreifen durch Adrenalin wieder zu regelmäßiger Tätigkeit anzuregen. Seine Erfolge waren aber in dieser Hinsicht sehr gering. Denn er schreibt<sup>1)</sup>: „Nur in einem einzigen Versuch gewinnt man den Eindruck, daß Adrenalin die kurz darauf erfolgende Ablösung des Stillstandes durch eine neue Schlagperiode begünstigt oder eingeleitet habe.“ „Verglichen also mit dieser wiederbelebenden Fähigkeit mechanischer Reize bleibt die tätigkeitsfördernde Wirkung des Adrenalins jedenfalls zurück.“ Wir hatten nun bereits in unserer ersten Mitteilung<sup>2)</sup> gezeigt, daß Bariumchlorid sowohl dem Adre-

nalinn wie auch mechanischen Reizen wesentlich überlegen ist. Wir wollen nun nicht allein diese Tatsache mit Beispielen belegen,

<sup>1)</sup> *F. Harries*, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **6**, 1918, spez. S. 318.

<sup>2)</sup> *E. Abderhalden u. E. Gellhorn*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **183**, 314. 1920.



sondern auch die Fähigkeit von l- und d-Adrenalin, die Automatie des nicht schlagenden Streifens anzuregen, untersuchen. Dabei wird es nötig sein, auf die Beziehung des Adrenalins und des mechanischen Reizes zueinander hinsichtlich der Anregung der Automatie näher einzugehen.

Zunächst seien die Versuche der Abb. 20—22, die von dem gleichen Kamrerlängsstreifen herrühren, besprochen. Dieser Streifen zeigt spontan keine Tätigkeit, obwohl längere Zeit gewartet wurde. Es gelingt aber regelmäßig mit l-, d-l oder d-Adrenalin, die Automatie des Herzstreifens zu erwecken. Abb. 20 beweist, daß hierzu bereits eine Dosis von l-Adrenalin 1 : 6 500 000 genügt. Allerdings dauert die Schlagperiode nur wenige Minuten. Die gleiche Adrenalingabe ruft abermals eine regelmäßige Tätigkeit des Herzstreifens hervor. Bei 6 wird nun noch einmal Adrenalin in gleicher Dosis gegeben. Die Kontraktionen nehmen an Größe zu, die Schlagtätigkeit hält längere Zeit an. Auch nach Wechsel der *Ringerschen* Flüssigkeit bleibt sie noch länger als 10 Minuten erhalten. Darauf wird (Abb. 21) an dem gleichen Präparate der Versuch unternommen, mit d-Adrenalin die Automatie des Herzstreifens wiederherzustellen. Man sieht, daß hierzu eine vielfache Menge der l-Adrenalin-Dosis erforderlich ist. Läßt man aber auf den so zu regelmäßiger Tätigkeit gebrachten Herzstreifen d-Adrenalin 1 : 650 000 einwirken, so tritt die fördernde Adrenalinwirkung sehr deutlich in Erscheinung. *Hieraus folgt, daß zur Anregung der Automatie eines nicht schlagenden Herzstreifens stets größere Konzentrationen von Adrenalin als zum Nachweis der fördernden Wirkung am tätigen Präparate erforderlich sind.* In Abb. 22 gelingt es, durch d-l-Adrenalin 1 : 6 500 000 ebenfalls die Automatie wiederherzustellen. Die Dauer der Schlagperiode ist aber deutlich geringer als bei Verwendung der gleichen Dosis l-Adrenalins. Daß dies kein zufälliges Ergebnis ist, sondern auf einem deutlichen Unterschied in der Wirkungsstärke zwischen d-l- und l-Adrenalin beruht, wie ja auch die oben beschriebenen Versuche über die Schwellenkonzentrationen des Adrenalins am schlagenden Herzstreifen dargetan haben, geht auch daraus hervor, daß die doppelte Dosis (bei 16 der Abb. 22) zwar wiederum eine reguläre Schlagtätigkeit anregt, daß aber nach Erneuerung der *Ringerschen* Flüssigkeit die Kontraktionen fast momentan aufhören, während in dem Versuch der Abb. 20 bei Anwendung der gleichen Dosis von l-Adrenalin noch längere Zeit nach dem Wechsel der Nährflüssigkeit die Kontraktionen fortbestanden.

Nachdem wir in einer großen Zahl von Versuchen uns davon überzeugt hatten, daß an Präparaten der „ganglienzellfreien“ Herzspitze häufig Adrenalin wie auch mehrfache Dehnungsreize nicht instande waren, die Automatie anzuregen, während  $\text{BaCl}_2$  ausnahmslos diese



Abb. 20. 100 000 Kammerlängsstreifen; das gleiche Präparat. Bei + 4 l-Adrenalin, 1 : 6,5 Millionen, + 5 l-Adrenalin 1 : 6,5 Millionen, + 6 l-Adrenalin 1 : 6,5 Millionen.



Abb. 21. Bei + 10 d-Adrenalin 1 : 650 000, 11 d-Adrenalin 1 : 650 000, 12 d-Adrenalin 1 : 325 000.



Abb. 22. Bei + 15 d-l-Adrenalin 1 : 6,5 Millionen, + 16 l-d-Adrenalin 1 : 3,25 Millionen.

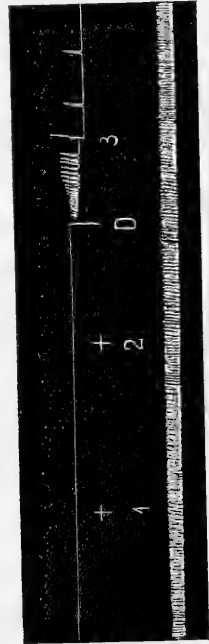


Abb. 23. Herzspitze. Dasselbe Präparat. Bei + 1 l-Adrenalin hydrochlor. 1 : 250 000, + 2 l-Adrenalin hydrochlor. 1 : 100 000, D = Dehnungsreiz, 3 Wechsel der Ringerschen Flüssigkeit.



Abb. 24. Herzspitze. Dasselbe Präparat. Zu Beginn der Kurve zwei Dehnungen. Bei + 7 l-Adrenalin hydrochlor. 1 : 100 000, 8. Wechsel der Ringerschen Flüssigkeit.

Wirkung herbeiführte, suchten wir nunmehr die Wirksamkeit von Adrenalin und Dehnungsreizen zu prüfen. Es fragt sich nämlich, ob durch vorhergehende Anwendung eines an sich unwirksamen Dehnungsreizes eine indifferente Adrenalinlösung die Automatie hervorrufen könnte und umgekehrt. Ein derartiger Versuch ist in Abb. 23 und 24 wiedergegeben. Man erkennt, daß l-Adrenalin (bei 1 und 2) auch in hoher Konzentration die Automatie der Herzspitze nicht auszulösen vermag. Während aber die Herzspitze sich noch in der Ringer- und Adrenalinlösung befindet, wird bei D ein Dehnungsreiz durch Herabdrücken des Schreibhebels ausgeübt. Sofort setzen eine ganze Reihe von Kontraktionen ein, die auch nach Erneuerung der Nährlüssigkeit (3) noch eine Zeitlang, wenn auch in stark verlangsamter Folge andauern. Dieser Versuch könnte nun ohne weiteres im Sinne von Löwe und Harries erklärt werden, daß mechanische Reize hinsichtlich der Anregung der Automatie wirksamer als Adrenalin sind. Wie aber Abb. 24, die von dem gleichen Herzstreifen herrührt und kurz nach dem Versuch der Abb. 23 aufgenommen wurde, zeigt, ist diese Erklärung nicht ausreichend. Denn hier erweisen sich mehrfache Dehnungsreize als unfähig, die Tätigkeit der Herzspitze anzuregen. Hinzu kommt noch die Erfahrung, daß an der nicht schlagenden Herzspitze die erste Anregung der Automatie am schwierigsten ist. Hat ein derartiges Präparat nach Anwendung eines geeigneten Reizes (z. B.  $\text{BaCl}_2$ ) eine mehr oder minder regelmäßige Tätigkeit begonnen, die nach einer bestimmten Zeit, sei es spontan<sup>1)</sup>, sei es infolge Sauerstoffmangels oder durch Gifte aufhört, so genügen häufig schwächere Reize als Bariumchlorid, wie z. B. Dehnung oder l-Adrenalin, um die Automatie der Herzspitze von neuem auszulösen. Gibt man aber nach den unwirksamen Dehnungsreizen l-Adrenalin zu der Nährlüssigkeit hinzu, so setzt die Automatie ein und überdauert auch den Flüssigkeitswechsel (8) einige Zeit. Diese Versuche lassen sich oft mit stets gleichbleibendem Erfolg wiederholen. *Sie machen die Auffassung notwendig, daß der mechanische (Dehnung) und der chemische (Adrenalin) Reiz sich bezüglich ihrer Wirkung, die Automatie des nicht schlagenden Herzstreifens anzuregen, summieren.*

Wie steht es nun mit der Anregung der Automatie durch d-Adrenalin? Daß diese an Kammerlängsstreifen gelingt, zeigt die oben besprochene Abb. 21. Über die Verhältnisse an der Herzspitze orientieren die Abb. 25 und 26. Hier zeigt sich (Abb. 25), daß mehrfache Dehnung sowohl vor wie nach Zugabe von d-Adrenalin unwirksam bleibt. Gibt man aber l-Adrenalin in die Ringersche Flüssigkeit, so zeigt der

<sup>1)</sup> Über die Lebensdauer des Herzstreifenpräparates, das verschiedenen Teilen der Herzmuskulatur entnommen ist, vgl. unsere früheren Untersuchungen: Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **183**, 1920, spez. S. 312ff.

Herzstreifen zwar keine Automatie, aber doch eine Kontraktion auf jeden Dehnungsreiz. Daß es sich in diesem Versuche nicht etwa um ein Präparat handelt, bei dem es überhaupt nicht gelingt, Automatie

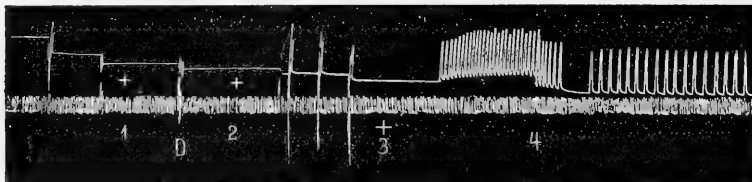


Abb. 25. Herzspitze. Dasselbe Präparat. Die Vertikalen unter die Grundlinie reichenden Striche sind durch Dehnungen hervorgerufen. Bei +1 d-Adrenalin hydrochlor. 1: 50 000, +2 l-Adrenalin hydrochlor. 1: 100 000, + 3 BaCl<sub>2</sub>, 0,01 g, 4 Wechsel der Ringerschen Flüssigkeit.

hervorzurufen, beweist die prompte Wirksamkeit von Bariumchlorid. Nachdem die Automatie dieses Präparates wieder erloschen war, wird wiederum seine Reaktionsfähigkeit auf mechanische Reize und d-Adrenalin geprüft. Abb. 26 beweist, daß auch hier wiederum d-Adrenalin sich prinzipiell gleich wie l-Adrenalin verhält

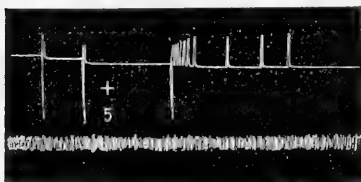


Abb. 26. Herzspitze. Dasselbe Präparat. Zu Beginn der Kurve zwei Dehnungen. Bei +5 d-Adrenalin hydrochlor. 1: 50 000. Darauf 1 Dehnungsreiz.

und nur bedeutend weniger wirksam ist. *Denn es gelingt auch durch Zugabe von d-Adrenalin, die Reaktionsfähigkeit der Herzspitze auf mechanische Reize im Sinne einer Anregung der Automatie zu erhöhen.*

Endlich sei noch ein Versuch (Abb. 27) besprochen, der die Überlegenheit von Bariumchlorid gegenüber Adrenalin demonstriert. Die obere Kurve ist von einem Kammerlängsstreifen, die untere von der Herzspitze des gleichen Froschherzens aufgenommen. Beide Präparate sind in das gleiche Gefäß mit Ringerscher Flüssigkeit versenkt und bleiben, nachdem anfangs ihre Automatie durch Bariumchlorid angeregt war, 8 Stunden ohne Sauerstoff. Die Automatie war in beiden Präparaten fast vollständig erloschen. Adrenalin und Dehnungsreize vermögen hieran nur wenig zu ändern; denn die Kontraktionen bleiben äußerst klein, unregelmäßig und (besonders an der Herzspitze) selten. Nunmehr wird Bariumchlorid gegeben. Die Kontraktionen nehmen rapide zu, allerdings unter Bildung Lucianischer Perioden. Diese blieben auch nach Erneuerung der Nährlüssigkeit noch eine Zeitlang bestehen. Sie schwinden aber, vermutlich infolge der dauernden Durchlüftung der Ringerlösung spontan, wie die Kurven, die eine Stunde später aufgenommen werden (bei 5), zeigen.

*Zusammenfassung.*

1. Am schlagenden Herzstreifen des Frosches werden für die fördernde Wirkung des Adrenalins folgende Schwellenkonzentrationen ermittelt:

l-Adrenalin 1 : 15 000 000, d-l-Adrenalin 1 : 7,5 Millionen, d-Adrenalin 1 : 1,5 Millionen.

2. Die Adrenalinwirkung ist bei Verwendung von Schwellen- oder nur wenig höheren Konzentrationen sehr flüchtig. Mit steigender Konzentration wächst aber ihre Dauer, so daß die Vergrößerung der Kontraktionen auch nach Erneuerung der Nährflüssigkeit noch anhält. Die Dauer der Nachwirkung ist bei d-Adrenalin bedeutend geringer als bei l-Adrenalin.

3. In hohen Konzentrationen bewirken d- und l-Adrenalin neben der Vergrößerung der Kontraktionen noch eine Verlangsamung der Frequenz. Sie läßt sich durch Atropin fast vollständig verhindern und wird deshalb als „vagtropo“ Wirkung im Sinne von *Kolm* und *Pick* aufgefaßt.

4. Es gelingt, mit l-, d- und d, l-Adrenalin die Lucianischen Perioden in eine regelmäßige Schlagfolge umzuwandeln.

5. Zur Anregung der Automatie eines nicht schlagenden Herzstreifens bedarf es einer höheren Adrenalinkonzentra-

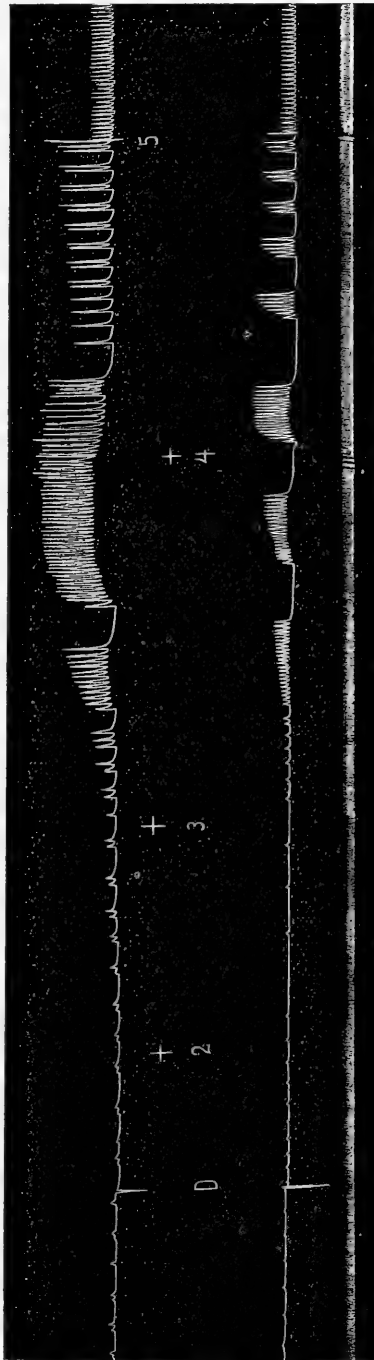


Abb. 27. Obere Reihe: Kammerlängsstreifen, untere Reihe: Herzspitze D = Dehnung. Bei + 2 l-Adrenalin 1 : 100 000, + 3 0,01 g BaCl<sub>2</sub>, + 4 Wechsel der Ringerschen Flüssigkeit + 5 1 Stunde später.

tion als zum Nachweis der fördernden Wirkung am tätigen Herzstreifen.

6. Der mechanische Dehnungsreiz erhöht die Reaktionsfähigkeit des nicht schlagenden Herzstreifens für Adrenalin und umgekehrt, so daß aus dem Zusammenwirken beider Reize die Automatie angeregt werden kann, auch wenn jede Reizart (mechanisch oder chemisch) für sich allein unwirksam bleibt.

7. Bariumchlorid übertrifft auch Dehnungsreiz + Adrenalin hinsichtlich der Anregung der Automatie bedeutend an Wirksamkeit.

# Zur Kenntnis des Verlaufs der Pupillenfasern beim Vogel.

Von  
A. Noll.

(Aus dem Physiologischen Institut zu Jena.)

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Juli 1922.)

Vor einigen Jahren hatte ich nach Großhirnexstirpationen an Tauben mehrere Fälle beobachtet, in denen infolge unbeabsichtigter Nebenverletzungen im Bereich des Zwischen- oder Mittelhirns Pupillenstörungen auf einem Auge aufgetreten waren<sup>1)</sup>. In der einen Gruppe von Fällen fehlte der Lichtreflex bei direkter Belichtung, während er konsensuell vorhanden war und auch die bei der Akkommodation erfolgenden sowie die synergisch mit dem Lidschlag eintretenden Irisbewegungen erhalten waren. Es bestand also eine Pupillenlichtstarre. Die Ursache derselben muß nach dem Symptomenkomplex eine Leitungsunterbrechung in der den Lichtreflex vermittelnden Opticusbahn, also den sogenannten Pupillarfasern, gewesen sein. Bei der Sektion fanden sich in diesen Fällen Verletzungen im Bereich des Mittelhirns. War hingegen die Akkommodation geschädigt, was in einer Anzahl anderer Versuche der Fall war, dann war meist die graue Masse des Thalamus defekt.

Eine genauere Bestimmung der Stellen des Tractus, deren Verletzung Pupillenlichtstarre hervorrief, war damals noch nicht möglich.

Ich stellte mir deshalb neuerdings die Aufgabe, die Existenz und den Verlauf der Pupillenfasern nach ihrer Kreuzung im Chiasma im Bereich des Tractus opticus bei der Taube festzustellen, indem ich an lebenden Tieren den Tractus an verschiedenen Stellen durchschnitt und zusah, ob danach der Lichtreflex am gegenüberliegenden Auge noch vorhanden oder verschwunden war.

Schon in der älteren Literatur finden sich einige hierher gehörende Angaben. *Flourens*<sup>2)</sup> und *Longet*<sup>3)</sup> beobachteten nach Verletzungen des Lobus opticus des Vogels Pupillenstörungen, ohne daß gleichzeitig auch das Sehvermögen gestört war. Wenn *Flourens* den einen

<sup>1)</sup> A. Noll, Über das Sehvermögen und das Pupillenspiel großhirnloser Tauben. Arch. f. Physiol. 1915, S. 350.

<sup>2)</sup> *Flourens*, Recherches expériment. sur les propriétés etc. 2. Aufl. Paris 1842. S. 46, 48, 144.

<sup>3)</sup> *Longet*, Anat. et Physiol. du système nerveux. I. Paris 1842. S. 470 ff.

Lobus abtrug, dann war das gegenseitige Auge blind, jedoch dessen Irisreaktion zunächst erhalten. Erst wenn auch die Wurzeln des Sehnerven durchschnitten wurden, reagierte die Pupille nicht mehr. Hieraus folgt, daß die Zweihügel für den Lichtreflex entbehrlich sind, aber die Angaben enthalten nichts Genaueres über das Lageverhältnis der Pupillenfasern zu den Sehfasern. Auch spätere Versuche *Renzi*<sup>1)</sup> gaben keinen Aufschluß hierüber.

Genauere Angaben über den Verlauf der Pupillenfasern machte erst *v. Bechterew*<sup>2)</sup>. Er bestätigte, daß der größte Teil eines Lobus opticus (Zweihügel) fehlen kann, ohne daß der Lichtreflex erlischt; letzterer bleibe auch dann noch, wenn der andere Lobus fortfällt. Erst wenn *v. Bechterew* an die medialen Wurzeln des Tractus opticus oder an den Tractus selbst kam, hörte auch die Lichtreaktion auf. Offenbar handelte es sich hierbei um ganz basal gelegene Stellen. Denn *v. Bechterew* folgert aus seinen Versuchen, die Pupillenfasern gingen von den Wurzeln des Tractus an der Basis des Zweihügels in verschiedener Höhe vom Tractus vor dessen Eintritt in die Zweihügel ab und gelangten auf kürzerem Weg, d. h. ohne Vermittlung der Lobi, zu den Oculomotoriuskernen.

Die Tatsache, daß nach unvollständiger Fortnahme der Lobi optici die Lichtreaktion bleibt, wurde später von *Singer* und *Münzer*<sup>3)</sup> sowie von *Schrader*<sup>4)</sup> bestätigt. Die genannten Forscher suchten nach den Pupillenfasern im Tractus. *Schrader* ging in einem Versuch nach Enukleation des rechten Auges von der Augenhöhle aus an den rechten Tractus heran und durchschnitt mindestens zwei Drittel von ihm, so daß nur ein „schmaler hinterer Rand“ stehen blieb. Die Lichtreaktion des linken Auges war danach erhalten, die Pupillenfasern waren also intakt. Da das Tier zur Zeit der Veröffentlichung *Schraders* noch am Leben war, fehlt ein Sektionsbefund und infolgedessen eine genaue Angabe über die Lage des erhalten gebliebenen Teiles des Tractus.

Allen diesen Angaben ist zu entnehmen, daß die Lobusdecke in der Hauptsache mit dem Pupillarlichtreflex nichts zu tun hat.

Ich selbst habe, um mich von der Richtigkeit dieser Angaben zu überzeugen, zunächst den Lobus an einigen Stellen oberflächlich verletzt, und ich kann bestätigen, daß in den mannigfachsten Richtungen geführte Schnitte im Bereich der Konvexität der Lobi den *Lichtreflex* nicht schädigen. Prüft man aber das Pupillenspiel bei der *Akkommodation*, dann ist dieses bei so operierten Tauben nicht normal. Wenn

1) *P. Renzi*, Ann. univers. Ref. Schmidts Jahrb. **124**, 151. 1864.

2) *v. Bechterew*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **31**, 68 u. **33**, 423.

3) *Singer* und *Münzer*, Beiträge zur Anatomie des Zentralnervensystems usw. Denkschr. d. Wiener Akad. math.-nat. Kl. **57**, 586. 1890.

4) *Max E. G. Schrader*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **29**, 88. 1892.



man dem Auge nämlich einen Gegenstand nähert, so verengert sich die Iris nicht immer, je nachdem man von oben, unten, hinten oder vorn herangeht: es sind Lücken im Gesichtsfeld vorhanden. Dies ist, wie gesagt, nach Verletzungen der Lobusdecke der Fall und erklärt sich durch Verletzung von *Sekfaserbündeln* des Tractus opticus, die bestimmten Netzhautbezirken zugeordnet sind. Hierüber hat schon *v. Bechterew*<sup>1)</sup> zutreffende Angaben gemacht. Man kann die Schnitte auch weit frontal an der Vorderfläche des Lobus anbringen, die unter der Großhirnhemisphäre liegt, nahe dem Thalamus, immer bleibt der Lichtreflex intakt. Einen solchen Schnitt zeigt Abb. 1 auf S. 632. Sobald man aber dem *medialen Tractusrand* zu nahe kommt, wird die gegenseitige Pupille erweitert und bei direkter Belichtung lichtstarr.

Nach diesen Erfahrungen war zu vermuten, daß die Pupillenfasern am inneren Rand des Tractus liefen. Dies wurde nun in der Tat durch die folgenden Versuche erwiesen.

Wenn man nach Eröffnung der Schädelhöhle und der Dura mater eine Hirnhälfte freilegt, sodann zwischen Großhirn und Lobus opticus von der Seite her mit einem schmalen Spatel eingehend, die Großhirnhemisphäre von hinten vorsichtig emporhebt, so sieht man, falls keine Blutungen die Übersicht erschweren, den weißen Tractus von der Basis her an den Thalamus herantreten und an dessen Seite nach hinten und oben weiterziehen. Es empfiehlt sich, den hinteren Teil der Großhirnhemisphäre ganz zu entfernen, was ohne weiteres geschehen darf, da bei der Taube das Großhirn am Zustandekommen des Lichtreflexes nicht beteiligt ist. Sobald das Operationsfeld klar vorliegt, lassen sich genau lokalisierbare Verletzungen am Tractus anbringen. Ich verwendete dazu ein schmales, spitzes, leicht konkaves Messerchen und machte kleine oberflächliche Schnitte oder Einstiche in den Tractus. Damit war die Operation beendet<sup>2)</sup>. Sollte das Tier längere Zeit am Leben bleiben, so wurde sorgfältig zugenäht. In allen Fällen prüfte ich schon unmittelbar nach der Durchschneidung die Pupillenreaktion mit einer elektrischen Taschenlampe. Nach dem Tode des Tieres wurde am herausgenommenen Gehirn die Lage des Schnittes genau bestimmt, die Hirne kamen dann zur Konservierung zum Teil in Formol, zum Teil in *Müllersche Flüssigkeit*, um letzterenfalls nach *Marchi* weiter behandelt zu werden.

Es soll hier hervorgehoben werden, daß in allen Versuchen von der Bahn des Pupillarreflexes nur die Opticusfasern verletzt wurden,

<sup>1)</sup> *v. Bechterew*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **33**, 423. 1884.

<sup>2)</sup> Bei den Operationen leistete mir eine von der Firma *Carl Zeiss* in Jena gelieferte *Brillenlupe* vorzügliche Dienste.

denn die Verletzungen gingen nie so weit in die Tiefe, daß der Oculomotoriuskern und der Nervus oculomotorius getroffen wurden.

Taube 56. Vor der Operation beiderseits normale Irisbewegungen. Einstich in den linken Tractus opticus an der in Abb. 3 markierten Stelle. Unmittelbar danach war der Lichtreflex am rechten Auge erloschen, am linken vorhanden.

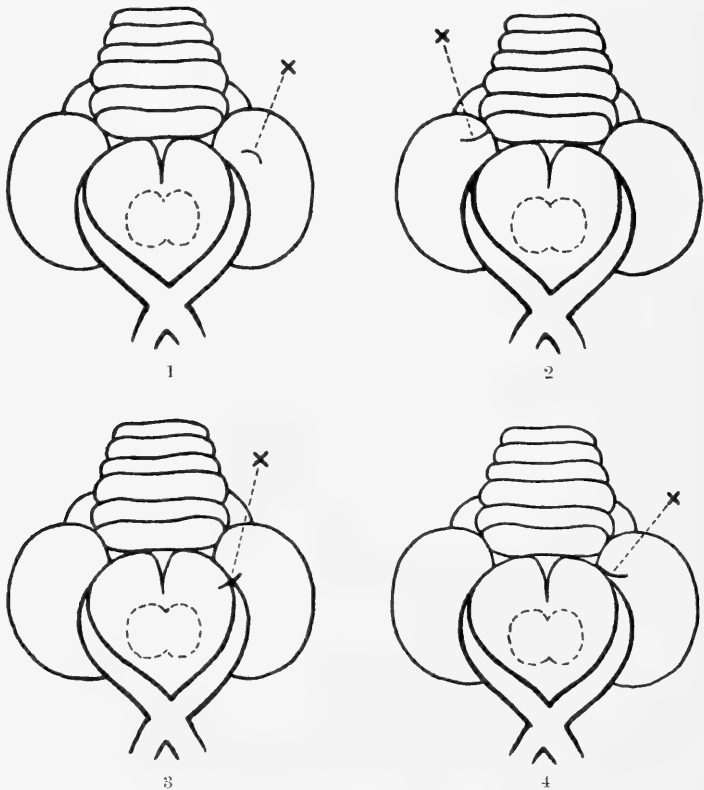


Abb. 1—4. Ansicht des Taubenhirns ohne Großhirn, von vorn gesehen. Dreimal vergrößert.

Abb. 1 und 2. Bei × Verletzung ohne Wirkung auf den Lichtreflex.

Abb. 3 und 4. Bei × Verletzung der Pupillenfasern. Näheres siehe im Text.

Tags darauf rechte Pupille weiter als linke, die Iris zeigt aber deutliche akkommodative Bewegungen; Lichtreflex rechts bei *direkter* Belichtung nicht auslösbar, *konsensuell* vorhanden<sup>1)</sup>.

Taube 47. Vor der Operation beiderseits normale Pupillenreflexe. Unbeabsichtigte Verletzung etwa an gleicher Stelle wie im vorstehenden Fall. Unmittelbar danach war der Lichtreflex erloschen. Während der folgenden 5 Tage bleibt er bei direkter Belichtung des Auges fort, ist aber konsensuell vorhanden. Beide Pupillen annähernd gleich weit.

<sup>1)</sup> Daß der Lichtreflex bei der Taube konsensuell erfolgt, hatte ich früher bewiesen. Arch. f. Physiol. 1915, S. 363 u. 364.

Taube 55. Vor der Operation waren die Irisbewegungen rechts weniger ausgiebig als links. Deshalb wurde die Operation an der rechten Hirnhälfte vorgenommen. Schnitt 2-3 mm lang durch den rechten Tractus etwas weiter unten als in den beiden vorigen Fällen. Nach der Operation linke Pupille maximal erweitert und lichtstarr.

Taube 58. In diesem Fall wurde der linke Tractus opticus etwa an gleicher Stelle wie bei Taube 55 durchgeschnitten. Sofort nach der Operation rechte Pupille erweitert und starr, während die linke sich bei Belichtung prompt verengerte. Der Zustand blieb so 5 Tage lang bis zum Tod, nämlich rechts keine Reaktion bei direkter Belichtung, wohl aber konsensuell. Das Hirn wurde nach *Marchi* behandelt und frontal geschnitten<sup>1)</sup>.

Aus der Serie gibt Abb. 5 einen Schnitt durch den Thalamus wieder. Die verletzte Stelle des Tractus ist im Bild rechts.

Aus den hier mitgeteilten und drei weiteren Versuchen (Nr. 31, 37, 52), bei denen nur der Lichtreflex, nicht auch die Akkommodation fehlte, folgt folgendes:

1. *Es gibt im Tractus opticus des Vogels Fasern, die nur den Lichtreflex vermitteln*<sup>2)</sup>.

2. *Die Pupillenfasern liegen am inneren Rand des Tractus und verlaufen nach rückwärts und aufwärts.*

Es ist nun die Frage, ob sie weiterhin mit den übrigen Fasern des Tractus in den weißen Überzug des Lobus opticus übergehen oder vorher nach dem Inneren des Gehirns abzweigen.

Um dies zu entscheiden, machte ich Verletzungen in der Gegend, wo Thalamus, Lobus opticus und Kleinhirn aneinander stoßen, und fand, daß die Pupillenbahn wohl noch bis zur Stelle des Übergangs der medialsten Tractusfasern auf den Lobus, aber nicht mehr auf dessen freie Oberfläche zu verfolgen ist.

Taube 67. Bevor nach Eröffnung der Schädelhöhle und Freilegung des rechten Lobus opticus die Verletzung erfolgte, war der Lichtreflex am linken Auge ungeschwächt vorhanden. Dann wurde ein Schnitt durch die Decke des rechten Lobus an der aus Abb. 2 auf S. 632 ersichtlichen Stelle derart gelegt, daß er noch auf die mediale, vom Kleinhirn bedeckte Fläche desselben übergriff, was in der Abbildung nicht zu sehen ist. Hiernach blieb die Reaktion der linken Iris bei direkter Belichtung ungestört.

<sup>1)</sup> Herr Professor *Goldstein* hatte die Freundlichkeit, diese und einige andere Gehirne im Neurologischen Institut in Frankfurt am Main weiter behandeln und schneiden zu lassen, wofür ich ihm zu großem Dank verpflichtet bin.

<sup>2)</sup> Ob dies schon vor dem Chiasma der Fall ist, ist eine Frage, die durch meine Versuche nicht entschieden wird. Nach *Hess* (*Arch. f. Augenheilk.* **60**, 327. 1908) sind in der Netzhaut des Vogels Seh- und Pupillenfasern noch *nicht* getrennt.

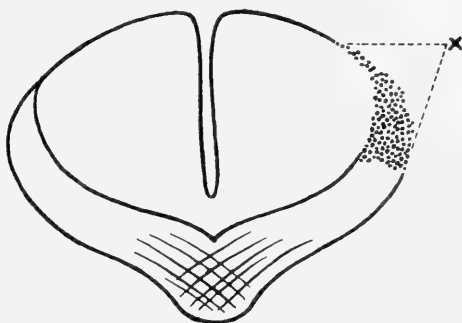


Abb. 5. Frontalschnitt durch den Thalamus der Taube, fünfmal vergrößert. Bei x Verletzung des Tractus opticus.

Taube 65. Hier wurde zunächst etwa an derselben Stelle wie im vorigen Versuch der rechte Lobus eingeschnitten, wonach der Lichtreflex am linken Auge normal blieb. Sodann legte ich den linken Lobus frei, führte das Messerchen in die Furche zwischen Lobus und Thalamus und traf dort gerade noch die Übergangsstelle des Tractus vom Thalamus auf den Lobus. Unmittelbar danach war die rechte Pupille weit und lichtstarr.

Das Erlöschen des Reflexes infolge des zweiten Schnittes kann nur durch die Verletzung der in der Furche gelegenen Fasern, nicht aber der lateral davon nach oben weiter ziehenden Fasern bedingt sein. Die letzteren liegen schon außer dem Bereich der wirksamen Schnittführung, wie aus den oben S. 631 erwähnten Versuchen hervorgeht (vgl. Abb. 1).

Taube 66. Hier machte ich den Schnitt auf der linken Seite ähnlich wie den zweiten Schnitt im vorigen Versuch (Abb. 4). Der Schnitt war hier kürzer als dort und griff nicht so weit auf die Oberfläche des Lobus über. Unmittelbar vor der Verletzung hatte die rechte Pupille bei Belichtung noch prompt reagiert, gleich danach bewegte sie sich nicht mehr.

Diese Versuche beantworten die oben gestellte Frage mit Bestimmtheit dahin, daß die Pupillenfasern vom Thalamus nicht auf die von benachbarten Hirnteilen nicht bedeckte Lobusoberfläche übertreten, sondern in der Tiefe weiterverlaufen.

Meine Feststellungen gipfeln also darin, daß die Pupillenfasern der Taube während des ganzen Verlaufes des Tractus über den Thalamus hin sich am inneren Saum des Tractus halten und weiterhin nicht an die Oberfläche des Lobus opticus gelangen. Sie ziehen also eine lange Strecke zusammen mit der Hauptmasse des Tractus nach rückwärts und aufwärts. Demnach zweigen sie keineswegs soweit basal ab, wie v. Bechterew angab. Noch weniger habe ich Veranlassung, wie dieser Forscher, anzunehmen, daß sie in verschiedener Höhe vom Tractus abzweigen. Denn selbst nach Verletzung weit dorsal gelegener Stellen tritt totale Lichtstarre bei direkter Belichtung ein. Das spricht dagegen, daß schon vorher eine Anzahl pupillomotorischer Opticusfasern die Bahn verlassen. Übrigens widerspricht das Auftreten totaler Lichtstarre auch der Behauptung v. Bechterews<sup>1)</sup>, daß ein kleiner Teil der Pupillenfasern im Chiasma nicht kreuze. Wäre dies der Fall, dann hätte nach einseitiger Tractusdurchschneidung der Reflex nicht vollständig versagen dürfen, da die nicht kreuzenden Fasern ihn hätten vermitteln können.

Dagegen scheint mir eine Angabe von Münzer und Wiener<sup>2)</sup> mit meinen Befunden übereinzustimmen. Diese Autoren sahen nämlich nach Zueihügelverletzung bei der Taube die Pupillenreaktion erhalten, wenn sie den Lobus von der Seite her entfernten, die Reaktion dagegen gestört, wenn sie ihn von oben her fortnahmen. Offenbar ist letzteren

<sup>1)</sup> v. Bechterew, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **33**, 425, Anm. 1884.

<sup>2)</sup> E. Münzer und H. Wiener, Beiträge zur Anatomie und Physiologie des Zentralnervensystems der Taube. Monatsschr. f. Psychiatr. u. Neurol. **3/4**, 402. 1898.

Falls die kritische Stelle zwischen Lobus, Thalamus und Kleinhirn der Verletzung mehr ausgesetzt als beim Eingehen von der Seite her.

Der Verlauf der Pupillenfasern bei der Taube scheint mir durch meine Versuche soweit geklärt, als es überhaupt durch Eingriffe an der Hirnoberfläche möglich ist.

Meine Ergebnisse lassen sich aber auch für die Frage nach der Bedeutung der einzelnen Züge des Tractus verwerten, deren Verlauf durch die neueren mikroskopischen Studien am Vogelhirn festgestellt wurde.

Zunächst interessiert hier das vom *Singer* und *Münzer*<sup>1)</sup> im Tractus der Taube beschriebene schmale Bündel, das nach Eukleation des zugehörigen Auges rascher degeneriert als die Hauptmasse des Tractus. Es trennt sich schon früh vom Tractus und steht in Verbindung mit einem kleinen grauen Kern an der Medianseite des Zweihügels, der später von *Münzer* und *Wiener*<sup>2)</sup> Nucleus ventralis nervi optici genannt wurde und mit dem Ganglion opticum basale (ectomammillare *Edingers*) identisch ist. Dieses Bündel kommt hier nicht in Betracht, weil es zu kurz ist und ganz basal verläuft. Auch spricht gegen seine Beteiligung am Lichtreflex ein Durchschneidungsversuch von *Singer* und *Münzer*<sup>3)</sup>, bei dem das Bündel erhalten blieb, der Lichtreflex aber fehlte.

Zweitens kommt der Opticuszug zum Corpus geniculatum laterale in Betracht. Dieser scheidet gleichfalls aus, weil er, ebenso wie der vorige, ganz basal verläuft.

Dagegen stimmt der Verlauf eines dritten Zuges, nämlich des von *Perlia*<sup>4)</sup> beschriebenen medialen Opticusbündels mit dem von mir festgestellten Verlauf der Pupillarfaser überein. *Perlia* hatte schon vermutet, es könne der Reflexvermittlung zwischen Retina und Sphincter iridis dienen, ohne allerdings selbst einen experimentellen Beweis hierfür zu bringen.

Der Verlauf dieses Bündels ist von *Perlia* beim Huhn und Sperling beschrieben worden. Es läßt sich auch bei der Taube an Frontalschnitten leicht verfolgen. Zunächst am medialen Rand des Tractus opticus gelegen, kommt es im Bereich des Lobus opticus ventral von den angrenzenden Opticusfasern zu liegen und ist bis in das seitlich vom Trochleariskern befindliche Ganglion isthmi (Ganglion opticum dorsale

---

<sup>1)</sup> *Singer* und *Münzer*, Beiträge zur Kenntniss der Sehnervenkreuzung. Wien. Denkschr. math.-nat. Kl. **55**, 171. 1889.

<sup>2)</sup> *Münzer* und *Wiener*, Monatsschr. f. Psychiatr. u. Neurol. **3/4**, 389. 1898 und ebenda **12**, 263, Anm. 1902. Vgl. hierzu *Mayser*, Allg. Zeitschr. f. Psychiatr. usw. **51**, 271. 1895.

<sup>3)</sup> *Singer* und *Münzer*, Wiener Denkschr. **57**, 586. 1890.

<sup>4)</sup> *Perlia*, Arch. f. Ophthalmol. **35** (1), 20. 1889.

von Münzer und Wiener) zu verfolgen (vgl. Wallenberg, Neurol. Zentralbl. 17, S. 532, 1898).

Daß dieses Bündel zentripetale Fasern enthält, ist von Perlia<sup>1)</sup>, Edinger und Wallenberg<sup>2)</sup>, sowie von Boyce und Warrington<sup>3)</sup> bewiesen. Denn nach Eukleation eines Auges degeneriert ein Teil der Fasern aufsteigend. Ein Teil degeneriert absteigend, wenn das Ganglion isthmi verletzt wird.

Dies Bündel mit seinen aufsteigenden Fasern, auf die es hier lediglich ankommt, muß bei allen meinen Eingriffen, die zum Erlöschen des Lichtreflexes führten, durchschnitten worden sein. Beim Durchsehen meiner Frontalserien finde ich in allen Fällen von Pupillenstarre dieses Bündel in größerer oder geringerer Ausdehnung verletzt. Ist dagegen der Lichtreflex erhalten gewesen, so finde ich das Bündel intakt. Also würde auch der mikroskopische Befund zu der Annahme stimmen, daß die Pupillenfasern in dem medialen Opticusbündel *Perlias* laufen.

Trotzdem möchte ich dies noch nicht mit voller Sicherheit behaupten. Denn in allen Fällen von Lichtstarre sind auch stets die dem Bündel benachbarten Fasern des Tractus verletzt worden, sodaß man diese für den Ausfall des Pupillarreflexes mit demselben Recht verantwortlich machen könnte. Eine vollständig gesonderte Durchschneidung des *Perlias*chen Bündels dürfte sich kaum erzielen lassen, weil es nicht genügend isoliert verläuft, und auch das feinste Instrument noch zu grob ist, um das äußerst schmale Bündel allein zu fassen. Immerhin geben meine Befunde der Vermutung, daß das Bündel die Pupillarfasern führe, eine neue Unterlage.

#### *Zusammenfassung.*

Durchschneidungsversuche am Tractus opticus der Taube ergaben, daß die den Lichtreflex vermittelnden Pupillenfasern am inneren Rand des Tractus verlaufen. Sie ließen sich nach rückwärts und aufwärts bis zu der Stelle verfolgen, wo der mediale Anteil des Tractus auf den Lobus opticus übergeht. Von da gelangen sie nicht mit den Sehfasern auf die freiliegende Oberfläche des Lobus, sondern gehen in der Tiefe weiter. Es ist möglich, daß sie in dem sogenannten medialen Opticusbündel (*Perlia*) verlaufen.

<sup>1)</sup> l. c. S. 635.

<sup>2)</sup> Edinger und Wallenberg, Anat. Anz. 15, 266. 1899.

<sup>3)</sup> Boyce und Warrington, Observations on the Anat., Physiol. and Degenerations of the nerv. syst. of the bird. Philosoph. Tra. sact. R. Soc. London 191. 304. 1899.

# Sind die durch Salze erzeugten Ruheströme Ströme einer Beutnerschen Ölkette?

Von  
**Hugo Natanssen.**

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Kiel.)

(Eingegangen am 19. Juli 1922.)

Nach *Beutner*<sup>1)</sup> erhält man elektromotorische Kräfte bis zu Zehntelvolt, wenn man Kombinationen: | wäßrige Lösung von Salz a | Öl | wäßrige Lösung von Salz b herstellt und aus den Lösungen mit Flüssigkeits-elektroden ableitet; unter Öl ist dabei ein organisches, mit Wasser nicht mischbares Lösungsmittel zu verstehen. Die elektromotorische Kraft einer solchen „Ölkette“ rührt von den relativ hohen Phasengrenzpotentialen her, die sich an den beiden Ölgrenzflächen infolge der verschiedenen Teilungskoeffizienten der Ionen der Salze ausbilden. Nimmt man nun Salz a und Salz b in der gleichen molaren Konzentration, hält Salz a in allen Fällen konstant und variiert nur Salz b, so ist die EMK jedesmal eine andere. Das Potential der Lösung b ist nämlich umso stärker positiv gegen Öl, je öllöslicher das Anion, umso stärker negativ, je öllöslicher das Kation. Die relative Anionenlöslichkeit wird dabei durch die Zunahme der Leitfähigkeit ausgedrückt, die das Öl beim Schütteln mit verschiedenen Salzen des gleichen Kations erfährt; entsprechend findet man die relative Kationenlöslichkeit durch Leitfähigkeitsbestimmungen mit Salzen von gemeinsamem Anion. *Beutner* gelangte so zu der Feststellung, daß, wenn als Salz a NaCl verwendet wird und als Salz b irgend ein anderes neutrales Na-Salz, das Potential der Lösung gegen das Öl immer positiver wird in der Reihenfolge:  $\text{SO}_4 < \text{Cl} < \text{Br} < \text{J} < \text{SCN}$ , und daß die Öllöslichkeit in der gleichen Reihenfolge ansteigt; die entsprechende Kationenreihe, die zu immer negativerem Potential der Lösung führt, lautet:  $\text{Mg} < \text{Ca} < \text{Ba} < \text{Na} < \text{K}$ .

Diese Ionenreihen, insbesondere die Anionenreihe, gelten nun nach *Höber*<sup>2)</sup> auch für den Einfluß der Neutralsalze auf den Ruhestrom des Muskels. *Beutner* zog daraus den Schluß, daß auch der Salzruhe-

<sup>1)</sup> *R. Beutner*, Die Entstehung elektrischer Ströme in lebenden Geweben. Stuttgart 1920.

<sup>2)</sup> *Höber*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **106**, 571. 1905.

strom des Muskels auf der Bildung von Phasengrenzkräften an einer öligen oder lipoiden Phase beruht. *Höber* gab seiner Beobachtung eine ganz andre Deutung. Die genannte Anionenreihe ist die bekannte lyotrope Reihe der Kolloidchemie; die von *Höber* bei den Muskelstrommessungen und bei anderen Beobachtungen festgestellte Reihe der Alkalkationen, welche ungefähr:  $\text{Li} < \text{Na} < \text{Cs} < \text{Rb} < \text{K}$  lautet, findet sich außerhalb des Physiologischen überhaupt nur in der physikalischen Chemie der hydrophilen Kolloide. Deshalb machte *Höber* im Anschluß an *Wilhelm Ostwald* und *Bernstein* die Annahme, daß die Grenzmembran der Muskelfasern von Natur beschränkt ionendurchlässig und dadurch der Sitz eines Membranpotentials sei, und daß die Salze durch Quellung oder Entquellung der die Membran aufbauenden Micellen die intermicellaren Poren zu verengern oder zu erweitern und so die beschränkte Ionendurchlässigkeit zu vermindern oder zu steigern vermöchten, ähnlich wie man etwa nach *Bigelow* und *Bartell*<sup>1)</sup> aus anorganischen Material poröse Diaphragmen herstellen kann, die je nach der künstlich erzeugten Porenweite für Zucker verschieden durchlässig sind. Es ist nun wichtig zu entscheiden, welche Deutung der Muskelströme den Vorzug verdient.

Ein Weg dazu ist der folgende: Nach *Beutner* ist die Öllöslichkeit von Salzen mit einem organischen und einem anorganischen Ion im allgemeinen größer als die der anorganischen Salze; infolgedessen bewirken jene ein größeres Grenzflächenpotential als diese, wobei die Salze mit organischem Kation ihre Lösung stärker negativ, die mit organischem Anion stärker positiv machen. Wenn der Muskel sich wie eine Ölphase verhält, muß Entsprechendes auch für ihn gelten. Dies wurde im Kieler physiologischen Institut bereits in zwei Versuchsreihen geprüft, die von *J. Vorschütz*<sup>2)</sup> veröffentlicht sind. Die erste betrifft die Ruhestrom entwickelnden Fähigkeiten von organischen Farbstoffen. Wenn wir nur das an dieser Stelle Wesentliche daraus anführen, so zeigte sich, daß die Farbstoffe mit organischem Kation zwar durchweg einen negativen Pol am Muskel erzeugen, aber da sie zugleich den Muskel lähmen, so ist das Ergebnis mehrdeutig; und die Farbstoffe mit organischem Anion sind, soweit sie physiologisch indifferent sind, auch elektrisch indifferent, rufen also nicht die relative Positivierung hervor, die man selbst bei kleinen molaren Konzentrationen nach *Beutner* wohl von ihnen erwarten könnte; eine Ausnahme bilden dabei drei Farbstoffe, die deutlich elektropositiv machen und zugleich durch vitales Färbvermögen erkennen lassen, daß sie in die Muskelfasern eindringen. Die zweite Versuchsreihe von *Vorschütz*

<sup>1)</sup> *Bigelow* und *Bartell*, Journ. Amer. Chem. Soc. **31**, 1194. 1909.

<sup>2)</sup> *J. Vorschütz*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **189**, 181. 1921 u. **190**, 54. 1921.



betrifft die Salze von Alkaloidbasen. Es ergab sich, daß diese entgegen dem, was nach *Beutner* zu erwarten wäre, zum Teil elektrisch indifferent sind und zum Teil nur schwach negativieren, und daß stark negativieren nur diejenigen, die wie Chinin-, Optochin- und Koffeinsalz ausgesprochen muskeltgiftig sind. Aber da bei diesen letzteren die Negativierung ebenso wie ihre Giftigkeit durch Ansäuern der Lösung stark zu vermindern ist, so dürfte auch die geringe negativierende Wirkung der anderen darauf beruhen, daß die durch Hydrolyse in Freiheit gesetzte Alkaloidbase die Muskeln von innen her vergiftet.

Die Bedenken, die auf Grund dieser Untersuchungen von *Vorschütz* gegen die Theorie von *Beutner* geltend zu machen sind, sind aber insofern etwas unsicher, als sie von der unbewiesenen Voraussetzung ausgehen, daß die angewandten organischen Salze, Farbstoffe und Alkaloidsalze auch wirklich in *Beutners* Ölketten relativ starke EMKe erzeugen würden. Ernstliche Einwände gegen die *Beutnersche* Theorie bilden dagegen die Hinweise von *Vorschütz*, daß nach den Untersuchungen von *Höber* die Salze der quaternären Ammoniumbasen sowie Natriumbenzoat und -salizylat sich gegenüber dem Muskel ziemlich elektro-neutral verhalten, während sie nach *Beutner* in Ölketten eine starke elektromotorische Wirksamkeit entfalten.

Zur weiteren Prüfung der *Beutnerschen* Theorie der Salzruhestrome schien es darum besonders erforderlich, die Erfahrungen über die elektromotorische Wirksamkeit der organischen Salze in Ölketten zu erweitern und die Ergebnisse solcher Messungen am Modell mit entsprechenden Ruhestrommessungen in Parallele zu bringen. Versuche der Art habe ich auf Anregung und unter Leitung von Prof. *Höber* angestellt.

#### A. Messungen an Ölketten.

Die Messungen der EMK von Ölketten lassen sich, wie schon *Beutner* hervorhebt, trotz der hohen inneren Widerstände auch in der gewöhnlichen Weise nach dem Kompensationsverfahren mit einem empfindlichen Galvanometer als Nullinstrument vornehmen, falls man nur für sorgfältige Isolierung aller Teile Sorge trägt. Diese wurde in meinen Versuchen durch Aufstellen auf Paraffin und durch Führung der Leitungen durch Glasrohre erreicht. Zum Beweis, daß so die Versuche von *Beutner* mit anorganischen Salzen genügend genau reproduziert werden können, seien folgende Meßwerte für die Kette: m KCl || Benzaldehyd ||  $\frac{m}{10}$  K-Salz, bezogen auf  $\frac{m}{10}$  KCl, angeführt:

$\frac{m}{10}$ K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	— 6,8 Millivolt
KCl	± 0
KBr	+ 6,7
KNO <sub>3</sub>	+ 10,7
KSCN	+ 37,7

Zur Ergänzung der Feststellungen von *Vorschütz* wurden sodann folgende Messungen gegen  $m/_{10}$  KCl ausgeführt:

	Ölphase:	Guajakol	Benzaldehyd
$m/_{10}$ Atropin-HCl		—104 Millivolt	—79 <sub>A</sub> Millivolt
Morphin-HCl		— 60	—57
Cinchonin-HCl		—110	—84
konz. Methylenblau-HCl			—88

Ferner wurde eine Anzahl *Salze stärkerer* und *schwächerer organischer Basen* in  $m/_{10}$ -Lösung gegen  $m/_{10}$ -KCl geprüft:

	Ölphase:	Guajakol	Benzaldehyd
Äthylamin-HCl		—21,4 M.V.	—11,4 M.V.
Propylamin-HCl		—27,9	—28,4
Isobutylamin-HCl		—37,9	—42,9
Diamylamin-HCl		—103,4	—123,4
Benzylamin-HCl		—66,4	—64,9
Tetraäthylammoniumchlorid			—66
Guanidin-HCl			—25,3
Piperidin-HCl			—41,8
<i>p</i> -Toluidin-HCl			—71
Tolylendiamin-HCl			—55
Chinolin-HCl			—86

Zur Vervollständigung können sodann noch einige neuerdings von *Freundlich* und *Gyemant*<sup>1)</sup> mitgeteilte Messungen angeführt werden:

	Ölphase:	Phenol	Benzonitril	Guajakol	Anilin
$m/_{10}$ Propylamin-HCl,	$m/_{10}$ KCl		—41		
$m/_{100}$ Strychnin-HNO <sub>3</sub> ,	$m/_{100}$ KCl	—14	—42	—49	—32
ca. $m/_{1000}$ Methylgrün,	$m/_{10}$ KCl	—14	—77	—64	—150
ca. $m/_{1000}$ Methylenblau,	$m/_{10}$ KCl	—38	—154	—113	—118
0,05% Echtsäureponceau,	$m/_{10}$ NaCl		+70		

Überblickt man diese Ergebnisse, so zeigt sich, daß über die wenigen bisher von *Beutner* mitgeteilten Beobachtungen an organischen Salzen hinaus sein Satz offenbar verallgemeinerungsfähig ist, daß *die Chloride organischer Basen ein erheblich, zum Teil sehr erheblich negativeres Potential in den Ölketten erzeugen, als die anorganischen Chloride*. Umgekehrt ruft der Säurefarbstoff Echtsäureponceau mit organischem Anion schon in der sehr geringen Konzentration von 0,05% ein starkes positives Potential hervor.

### B. Messungen am Muskel.

Vergleichen wir mit den Ölketten nun die Muskelketten!

Das Meßverfahren war das übliche. Als Muskeln kamen möglichst unverletzt präparierte Sartorien kurarisierter Esculenten und Temporarien zur Verwendung; sie wurden an der Tibia aufgehängt, das Beckenende tauchte in Ringerlösung von der Zusammensetzung: 0,65% NaCl + 0,03% KCl + 0,03% CaCl<sub>2</sub>. Daraus ebenso

<sup>1)</sup> *Freundlich* und *Gyemant*, Zeitschr. f. physikal. Chem. **100**, 182. 1922.

wie von dem tibialen Ende des Muskels wurde mit Kalomelelektroden, die mit der gleichen Ringerlösung gefüllt waren, zum Galvanometer abgeleitet. Der Strom wurde mit dem Strom eines Akkumulators kompensiert, 1 cm des Gleitdrahts entsprach  $10^{-4}$  Amp.

Nach der Zusammenstellung der Kette wurde zunächst abgewartet, bis die EMK konstant geworden war; dann wurde die Ringerlösung gegen Ringerlösung ausgetauscht, die meist mit m/25 organischem Salz versetzt war; eventuell mußte die Lösung (mit Soda) neutralisiert werden. Die Wirkung der organischen Salze wurde meistens mit der von etwa m/200 KCl verglichen, d. h. der KCl-Gehalt der Ringerlösung wurde um 0,04% erhöht, und der Einfluß auf die EMK gemessen.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt; sämtliche Salze sind Hydrochloride.

	Konzentr. (in Liter pro Mol)	Wir- kungs- dauer in Min.	EMK (in Volt · $10^{-4}$ )	+0,04% KCl		Bemerkungen
				Wir- kungs- dauer in Min.	Volt · $10^{-4}$	
Triäthylamin . . . . .	25	60	-26	30	-39	
Propylamin . . . . .	25	60	0	20	-37	
Isobutylamin . . . . .	25	60	-20	15	-15	
Amylamin . . . . .	50	50	-19			
Nitrosodimethylamin . . . . .	25	60	-18	10	-49	
Benzylamin . . . . .	25	60	-68			reversibel
Cholin . . . . .	50	60	-35			reversibel
Äthylendiamin . . . . .	25	30	-6	30	-29	
Pentamethylendiamin . . . . .	25	60	-38			mäßig rev.
Phenylendiamin . . . . .	25	40	0			
Dimethyl-p-phenylendiamin	ges.	30	-6	30	-62	
Tolylendiamin . . . . .	25	60	0	20	-29	
Triphenylguanidin . . . . .	ges.	60	0	30	-27	
Piperidin . . . . .	25	60	-45			mäßig rev.
Anilin . . . . .	25	60	-47			irreversibel
Anilin . . . . .	50	60	-52			
o-Nitranilin . . . . .	ges.	60	0	30	-70	
m-Nitranilin . . . . .	ges.	60	0	30	-41	
p-Toluidin . . . . .	25	30	-10	30	-29	
Chinolin . . . . .	25	30	-97			irrevers.
Chinolin . . . . .	50	25	-51			irrevers.
Chinolin . . . . .	100	60	0	15	-31	

Die Tabelle lehrt Folgendes: Die untersuchten Salze der organischen Basen bewirken in  $m/_{25}$ — $m/_{50}$ -Konzentration beim Muskel zumeist entweder kein oder nur ein sehr schwach negatives Potential<sup>1)</sup>. Das Potential ist — soweit das festgestellt wurde, — durchweg kleiner als das negative Potential, das durch  $m/_{200}$  KCl hervorgerufen wird. Das widerspricht aber der Parallelisierung der Muskelketten mit den Ölketten.

<sup>1)</sup> Die stärkere Wirkung von m/25 Chinolinhydrochlorid beruht auf seiner Giftigkeit, die sich nicht nur in der Irreversibilität, sondern auch in auffällender Verquellung des eintauchenden Muskelendes äußert.

Insbesondere können die Wirkungen der Hydrochloride von Propylamin, Isobutylamin, Toluylendiamin, p-Toluidin und Chinolin ( $\frac{m}{100}$ ) auf das Grenzflächenpotential gegen Öl und gegen Muskelsubstanz direkt miteinander verglichen werden, wobei sich zeigt, daß die starke Wirksamkeit in den Ölketten bei den Muskelketten vermißt wird. *Aber auch die früheren Ergebnisse von Höber und Vorschütz widersprechen Beutners Vorstellung vom Zustandekommen der Salzruheströme noch auffällender, als man vor Ausführung der Ölkettenmessungen sagen konnte.* Die Tabellen auf S. 640—641 lehren, daß die Salze der Alkaloide und der Farbbasen, daß Tetraäthylammoniumchlorid und der Säurefarbstoff Echtsäureponceau hohe Verteilungspotentiale an der Öl-Wasser-Grenze hervorbringen, während sie an der Muskel-Wasser-Grenze wenig aktiv sind<sup>1)</sup>. *Erinnert man sich ferner des Hinweises von Vorschütz, daß Natriumbenzoat und -salicylat in Ölketten stark, in Muskelketten wenig wirksam sind, und daß die Eigenschaften der Ölketten den physiologisch so bedeutsamen Antagonismus zwischen ein- und mehrwertigen Kationen, der nach Höber<sup>2)</sup> auch bei den Muskelströmen aufs deutlichste in Erscheinung tritt, schwerlich erklärlich machen, so vervollständigt sich der Eindruck, daß die Salzruheströme nicht auf der Bildung von Verteilungspotentialen beruhen, während die angeführten Erscheinungen der Kolloidtheorie des Ruhestroms bisher nicht widersprechen, d. h. in die Vorstellung hineinpassen, daß die Muskelgrenzfläche, mit der Eigenschaft beschränkter Ionendurchlässigkeit begabt, Sitz eines Membranpotentials ist, das von den Elektrolyten entweder durch Quellung und Entquellung oder durch Flockung und Peptisierung der Membranmicellen verändert werden kann.*

#### *Zusammenfassung.*

Durch Messung der elektromotorischen Kraft diphasischer Flüssigkeitsketten mit einem Öl als zweiter Phase wird der Satz von *Beutner* bestätigt, daß die organischen Salze stärkere Grenzflächenpotentiale erzeugen, als die anorganischen Salze. Die Wirkung der organischen Salze auf den Ruhestrom des Muskels ist demgegenüber verhältnismäßig schwach, soweit die Muskelsubstanz nicht durch die Salze angegriffen wird. Die Salzruheströme des Muskels sind also nicht als Ströme einer Ölkette aufzufassen.

Zum Schluß spreche ich Herrn Professor *Höber* für die Anregung zu der Arbeit sowie die tatkräftige Hilfe, die er mir bei Experiment und Manuskript hat zuteil werden lassen, meinen besten Dank aus.

<sup>1)</sup> Siehe *Vorschütz*, l. c.

<sup>2)</sup> *Höber*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **166**, 531. 1917.

## Kurze Mitteilung.

### Über die Beeinflussung der Hämolyse durch Fütterung mit Cholesterin und Fetten.

Von

D. Rywosch, Warschau.

(Eingegangen am 25. September 1922.)

Im Jahre 1907 habe ich in Pflügers Archiv **116** Untersuchungen über vergleichende Hämolyse einiger Säugetiere publiziert. Das Hauptergebnis war, daß sich ein reziprokes Verhalten bei den untersuchten Blutarten zwischen Hämolyse durch Wasser (hypotonische Lösungen) und Hämolyse durch Saponin herausstellte: je resistenter eine Blutart gegen Saponin war, desto schwächer erwies sie sich gegen Wasser. Wir wollen hier zunächst auf die Erklärung dieser Erscheinung nicht eingehen, möchten nur aufmerksam machen, was übrigens schon oft hervorgehoben, daß diejenigen Blutarten am resistantesten gegen Saponin sind, deren Stromata reicher an Cholesterin sind (Hammel, Rind, Ziege).

Einige Jahre darauf (Zentralbl. f. Physiol. **25**. 1911) untersuchte ich das Verhalten der Blutkörperchen bei einigen Säugetieren gegen Wärme (Wärmehämolyse). Es stellte sich heraus, daß zwischen dem Verhalten gegen Wärme und gegen Saponin ein Parallelismus vorhanden ist: die resistenteren gegen Saponin waren auch resistenter gegen Wärme. Das bemerkenswerte war dabei, daß auch das Fett dieser Tiere in betreff des Schmelzpunktes dieselbe Reihenfolge aufweist (Hammel, Rind, Schwein, Kaninchen).

Diese Beobachtungen scheinen dafür zu sprechen, daß Cholesterin und Fette, die am Aufbau der Stromata teilnehmen, das verschiedene Verhalten gegen Wasser und Saponin bedingen. Von diesem Standpunkt ausgehend, beschloß ich Fütterungsversuche anzustellen, um ev. eine Umstimmung im Verhalten der Blutkörperchen gegen hämolytische Agentien hervorzurufen. Den ersten darauf bezüglichen Versuch stellte ich vor dem Kriege an einem Hammel an. Während eines Aufenthaltes in Villefranche s. m. fütterte ich im Verlauf von 4 Wochen einen Hammel mit Oliven und Kleie. Da mir keine Zentrifuge zur Verfügung stand, beschränkte ich mich das Blut bloß auf Hämolyse durch Wärme

zu prüfen. Es stellte sich nun heraus, daß eine deutliche Herabsetzung des „Schmelzpunktes“ der Blutkörperchen stattfand: trat die Hämolyse bei diesem Hammel vor der Fütterung bei  $68^{\circ}$  auf, so war nach der Fütterung die Hämolyse schon bei  $66-65,5^{\circ}$  aufgetreten. Da die Hämolyse durch Wärme parallel mit dem Verhalten gegen Saponin einhergeht, wäre zu vermuten, daß die Blutkörperchen des Versuchshammels auch gegen dasselbe schwächer geworden; wie gesagt, habe ich aber diese Untersuchungen nicht ausgeführt.

Dieser vereinzelte Versuch kann natürlich nicht als ausreichend gelten, um die Frage der Beeinflussung der Hämolyse durch Nahrung zu entscheiden, er kann aber doch zu weiteren Versuchen in dieser Richtung ermutigen.

Vor einigen Monaten habe ich 8 weiße Ratten vom selben Wurf bekommen und habe nun an diesen Fütterungsversuche angestellt. Die Blutkörperchen dieser Tierchen zeichnen sich dadurch aus, daß sie sehr resistent gegen Wasser sind. Während beispielsweise die Blutkörperchen des Hammels schon bei  $99,5-99,48\%$  Wasser ( $0,5-0,52\%$  NaCl) vollständig sich lösen, ertragen die Blutkörperchen der Ratten einen Wassergehalt von  $99,6\%$ , um erst bei  $99,62-99,63\%$  ( $0,38$  bis  $0,37\%$  NaCl) eine vollständige Hämolyse aufzuweisen. Gegen Saponin (in physiologischer NaCl-Lösung) sind sie dagegen weniger resistent: Hammelblutkörperchen lösen sich erst bei  $1:20000$  bis  $1:18000$ ; Rattenblutkörperchen schon bei einer Verdünnung  $1:60000$ . Nun versuchte ich durch Verfütterung von Rinderfett und Cholesterin eine Umstimmung im Verhalten der Blutkörperchen meiner Ratten gegen die genannten hämolytischen Agentien hervorzurufen. Da es mir zunächst nur darauf ankam zu sehen, ob man die Hämolyse der Blutkörperchen überhaupt beeinflussen kann, vereinigte ich bei der Fütterung beide Momente, die, meiner Ansicht nach, einen Einfluß auf die Hämolyse haben könnten: Fette und Cholesterin. Es wurde Rinderfett geschmolzen, darin eine gewogene Menge Cholesterin gelöst und darauf mit Grütze gemischt. Vier Ratten bekamen auf diese Weise vorbereitete Nahrung im Verlauf von 4 Wochen, im ganzen  $42\text{ g}$  Cholesterin in  $500\text{ g}$  Rinderfett gelöst. Die anderen vier Geschwister, die zur Kontrolle dienen sollten, bekamen während derselben Zeit Grütze und etwas Brot. Nach Verlauf dieser 4 Wochen wurde ihnen Blut entnommen und zwar, da mir keine Assistenz zur Verfügung stand, durch Abschlagen. Infolgedessen habe ich von jeder Ratte nur wenig Blut erhalten können. Die Menge war allerdings genügend, um einen frappanten Unterschied im Verhalten des Blutes beider Rattengruppen gegen die erwähnten hämolytischen Agentien festzustellen. Bei sämtlichen Ratten wurde das Blut defibriert, darauf zentrifugiert, das Serum abgehoben und von dem Bodensatz je  $0,1\text{ ccm}$  Blutkörperchen in eine Reihe von Probier-

gläschen von verschiedener NaCl-Konzentration bzw. Saponinkonzentration getan. Jedes Gläschen enthielt 10 ccm Flüssigkeit, so daß 1% Blutkörperchenmischung resultierte. Während bei den Kontrolltieren erst bei einem Wassergehalt von 99,63—99,62% (0,37—0,38% NaCl) vollständige Hämolyse auftrat, bei niedrigerem Wassergehalt ein geringerer oder größerer Bodensatz ungelöster Blutkörperchen zu sehen war, war bei den Versuchstieren vollständige Lösung eingetreten, ohne eine Spur von ungelösten Blutkörperchen bei 99,6—99,58% (0,40—0,42% NaCl). Bei den Kontrolltieren war bei diesen Konzentrationen die über dem Bodensatz ungelösten Blutkörperchen stehende Flüssigkeitsschicht fast wasserklar. Infolge der geringen Blutmenge, die ich zur Verfügung hatte, verzichtete ich darauf, diejenigen Konzentrationen von Wasser bzw. NaCl festzustellen, bei welcher bei den Versuchstieren ein Bodensatz von ungelöster Blutkörperchen geblieben wäre. Wir sehen jedenfalls, daß durch Verfütterung von Cholesterin und Fett eine deutliche Herabsetzung der Resistenz der Blutkörperchen gegen Wasser sich herausgebildet hat. Dagegen erwiesen sich die Blutkörperchen der Versuchstiere resistenter gegen Saponin. Die Blutkörperchen der Kontrollratten lösten sich vollständig bei einer Konzentration von 1:60 000, dagegen wiesen die Blutkörperchen der Versuchsratten selbst bei 1:50 000 keine Spur von Lösung; die über dem Bodensatz der Blutkörperchen stehende Flüssigkeit war wasserklar. Aus Mangel an Material an Blut habe ich nicht feststellen können, bei welcher Konzentration eine Lösung stattfindet, was übrigens ohne Bedeutung für unsere Frage wäre; die Erhöhung der Resistenz gegen Saponin bei dem Blute der Versuchsratten tritt aus diesen Untersuchungen deutlich hervor. Es ist schwerlich anzunehmen, daß bloß die Blutkörperchen unter dem Einfluß dieser Nahrung einer Änderung in ihrem Verhalten unterliegen. Vermutlich gehen Umstimmungen auch in anderen Geweben und Organen vor sich.

---

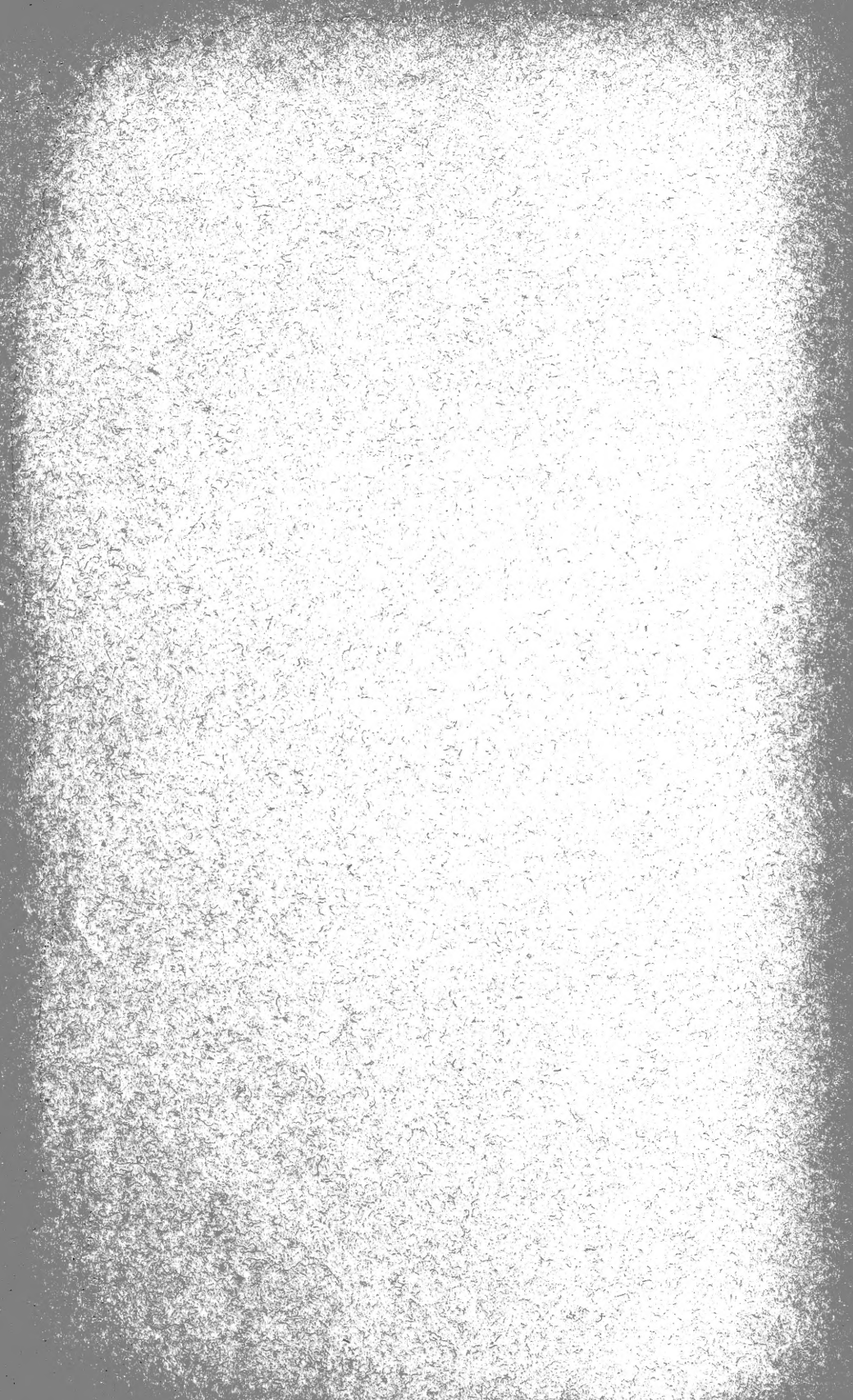
## Autorenverzeichnis.

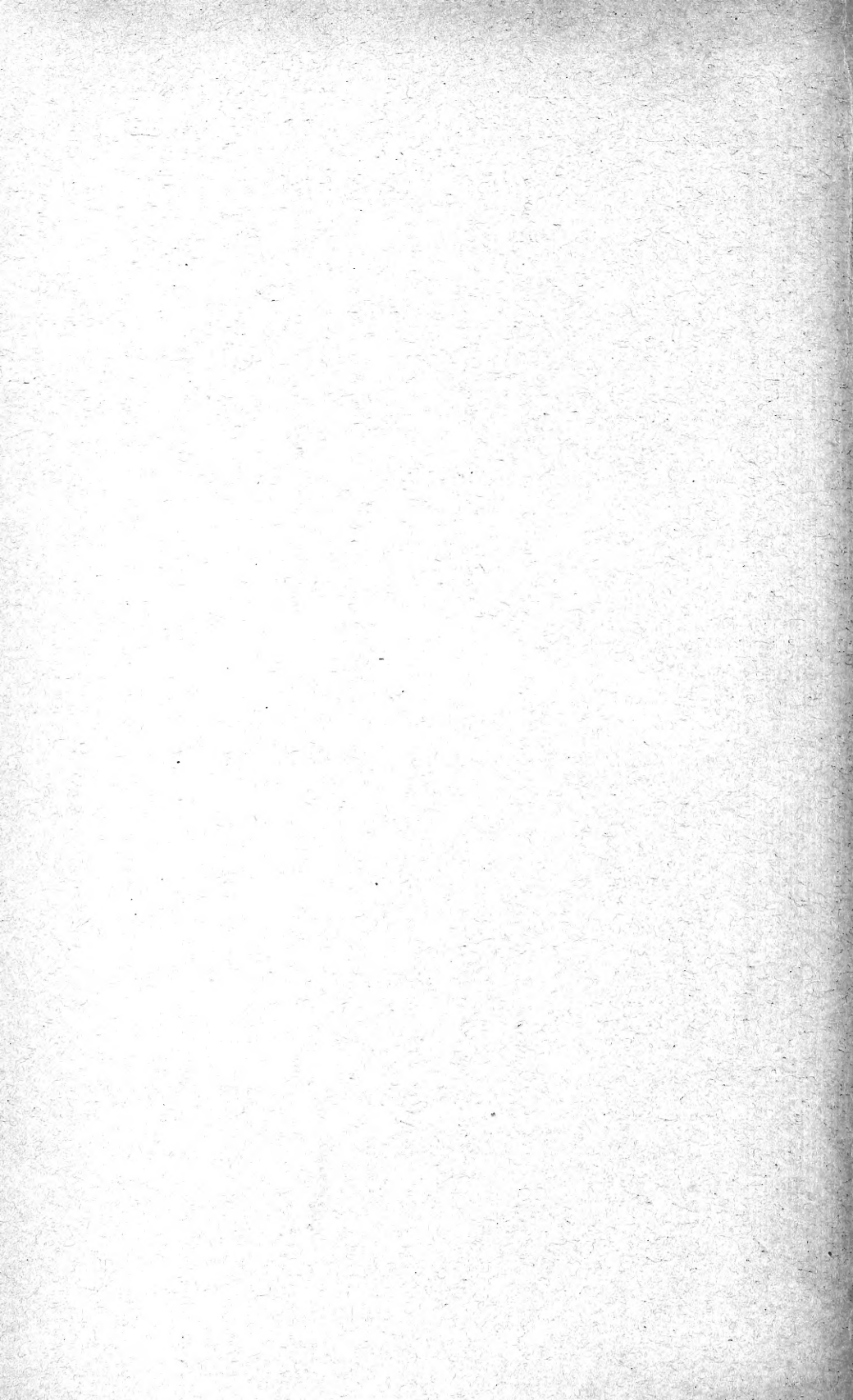
- Abelsdorff, G., W. Dieter* und *A. Kohlrausch*. Weitere Untersuchungen über den Dunkeladaptationsverlauf bei verschiedenen Farbensystemen und bei Adaptationsstörungen. S. 118.
- Abderhalden, Emil* und *Ernst Gellhorn*. Beiträge zur allgemeinen Zellphysiologie. Studien über die Quellbarkeit von Muskeln und ihre Permeabilität unter verschiedenen Bedingungen. S. 584.
- — Das Verhalten des Herzstreifenpräparates (nach Loewe) unter verschiedenen Bedingungen. I. Mitteilung. Versuche über den Einfluß von l-, d- und d-l-Adrenalin auf den schlagenden und nichtschlagenden Herzstreifen. S. 608.
- und *Ernst Wertheimer*. Weitere Studien über das Wesen des anaphylaktischen Schockes. II. Mitteilung. Untersuchungen über den Gesamt- und den Gewebsgaswechsel im anaphylaktischen Schock bei Tauben. S. 429.
- — Weitere Studien über das Wesen des anaphylaktischen Schockes. III. Mitteilung. Zugleich ein Beitrag zum Studium des Wesens der alimentären Dystrophie. S. 440.
- Bohnenkamp, Helmuth*. Über die Wirkungsweise der Herznerven. S. 275.
- Brinkman, R.* und *E. van Dam*. Die chemische Übertragbarkeit der Nervenreizwirkung. S. 66.
- van Dam, E.* Siehe Brinkman.
- Démétriades, Th. D.* Siehe Spiegel.
- Dieter, W.* Siehe Abelsdorff und Kohlrausch.
- Efimoff, W. W.* und *A. W. Efimoff*. Das Weber-Fechnersche Gesetz bei der Arbeit des Menschenmuskels. S. 243.
- Gellhorn, Ernst*. Untersuchungen zur Physiologie der räumlichen Tastempfindungen unter Berücksichtigung der Beziehungen des Tastraumes zum Sehraume. II. Mitteilung. S. 311.
- Gellhorn, Ernst*. Befruchtungsstudien. I. Mitteilung. S. 358.
- Befruchtungsstudien. II. Mitteilung. S. 374.
- und *Ernst Wertheimer*. Berichtigung zu der Abhandlung „Über den Parallelitätseindruck“. S. 462.
- Haffner, F.* Über den Mechanismus von Hämolyse und Agglutination durch Ionen. S. 15.
- Hart, C.* Beiträge zur biologischen Bedeutung der innersekretorischen Organe. I. Mitteilung. Schilddrüse und Metamorphose. S. 127.
- Beiträge zur biologischen Bedeutung der innersekretorischen Organe. II. Mitteilung. Der Einfluß abnormer Außentemperaturen auf Schilddrüse und Hoden. S. 151.
- Hatano, Shigeoki*. Siehe Kuré, Shinosaki und Kishimoto.
- Herrel, Hermann*. Das Blut der Haustiere mit neueren Methoden untersucht. III. Mitteilung. Differentialzählungen der Lymphocyten und Monocyten im Pferde-, Rinder- und Hundeblood. S. 560.
- Hertz, Wilhelm*. Die Vitalfärbung von Opalina ranarum mit Säurefarbstoffen und ihre Beeinflussung durch Narkoticum. S. 444.
- Jonkhoff, J. J.* Beiträge zur Pharmakologie der Körperstellung und der Labyrinthreflexe. VII. Mitteilung. Oleum Chenopodii. S. 571.
- Kahn, R. H.* Aus der physiologischen Praxis. S. 400.
- de Kleyn, A.* und *C. Versteegh*. Beiträge zur Pharmakologie der Körperstellung und der Labyrinthreflexe. VI. Mitteilung. Über eine Methode zur Lokalisierung der Angriffspunkte verschiedener Arzneimittel auf den vestibulären Nystagmus, mit besonderer Berücksichtigung der Wirkung von Nikotin. S. 331.



- Kishimoto, Michio.* Siehe Kuré, Shinosaki und Hatano.
- Kolmer, W. und R. Löwy.* Beiträge zur Physiologie der Zirbeldrüse. S. 1.
- Kohlrausch, Arnt.* Untersuchungen mit farbigen Schwellenprüflichtern über den Dunkeladaptationsverlauf des normalen Auges. S. 113.
- Siehe Abelsdorff und Dieter.
- Kuré, Ken, Tetsushiro Shinosaki, Michio Kishimoto und Shigeoki Hatano.* Die morphologische Grundlage der sympathischen Innervation des quergestreiften Muskels und die Lokalisation der Zwischenschaltganglien der tonusgebenden Faser für den quergestreiften Muskel. S. 423.
- Lasareff, P.* Untersuchungen über die Ionen-theorie der Reizung. IV. Mitteilung. Die Theorie der Erscheinungen des Flimmerns beim Dunkelsehen. S. 177.
- Lipschitz, Werner.* Über den Mechanismus der Zelloxydationen und der Blausäurewirkung. S. 463.
- Liljestrand, G., C. de Lind van Wijngaarden und R. Magnus.* Ist die Lunge undurchgängig für Ammoniak? S. 247.
- Loewy, R.,* Siehe Kolmer.
- Magnus, R.* Siehe Liljestrand und de Lind van Wijngaarden.
- Mandur, Ibrahim.* Siehe Schilf.
- Mangold, Ernst.* Untersuchungen über Muskelhärte. I. Mitteilung. Eine allgemein anwendbare Methode zur physiologischen Härtebestimmung. S. 200.
- Untersuchungen über Muskelhärte. II. Mitteilung. Die Härtemessung in Totenstarre und Wärmestarre. S. 215.
- Messerli, N.* Siehe v. Wyss.
- Mittelmann, Béla.* Über länger anhaltende (tonische) Beeinflussungen des Kontraktionszustandes der Skelettmuskulatur des Menschen. S. 531.
- Mond, Rudolf.* Untersuchungen über die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf Eiweißlösungen. I. Mitteilung. S. 540.
- Nakagawa, Tomoichi.* Die Wirkung von Kalebassen-Curare auf die Irisbewegung. S. 123.
- Natanssen, Hugo.* Sind die durch Salze erzeugten Ruheströme Ströme einer Beutnerschen Ölkette? S. 637.
- Neuschlössz, S. M.* Untersuchungen über die Wirkung von Neutralsalzen auf den tonischen Anteil der Muskelzuckung. S. 503.
- Nirenstein, Edmund.* Über das Vorkommen freier Säure im Verdauungstrakt von Oligochaeten. S. 60.
- Noll, A.* Zur Kenntnis des Verlaufs der Pupillenfasern beim Vogel. S. 629.
- Perger, Hans.* Untersuchungen über das Aussalzen der Polysaccharide und über den Verlauf der Säurehydrolyse der Stärke. S. 92.
- Rywosch, D.* Über die Beeinflussung der Hämolyse durch Fütterung mit Cholesterin und Fetten. S. 643.
- Schilf, Erich und Ibrahim Mandur.* Zur Frage der Hemmungsinervation der Schweißdrüsen. S. 345.
- Shinosaki, Tetsushiro.* Siehe Kuré, Kishimoto und Hatano.
- Spiegel, E. A.* Entgegnung auf R. H. Kahns Kritik der Arbeit „Der Klammerreflex nach Sympathicus-extirpation“. S. 458.
- und *Th. D. Démétriades.* Beiträge zum Studium des vegetativen Nervensystems. III. Mitteilung. Der Einfluß des Vestibularapparates auf das Gefäßsystem. S. 185.
- Takahashi, N.* Hodenatrophie nach Exstirpation des abdominalen Grenzstranges. S. 237.
- Versteegh, C.* Siehe de Kleyn.
- Weiss, Hermann.* Über den Einfluß unterschwelliger elektrischer Reizung auf den Permeabilitätszustand von Frostmuskeln. S. 393.
- Werner, F. Felix.* Physiologische und pharmakologische Studien an der Atmung des Kaltblütlers. S. 83.
- Wertheimer, Ernst.* Untersuchungen am intakten Kreislauf verschiedener Organe beim Frosch. S. 412.
- Wijngaarden, C. de Lind van.* Siehe R. Magnus.
- v. Wyss, W. H. und N. Messerli.* Reflexe vom Mesenterium auf das Herz. S. 229.







MBL WHOI Library - Serials



5 WHSE 05777

