

ACTA BIOLOGIAE EXPERIMENTALIS

LITTERAE
SOCIETATIS PHYSIOLOGORUM POLONORUM

REDACTORES:

K. BIAŁASZEWICZ (WARSZAWA), J. FEGLER (KRAKÓW),
E. LEYKO (WILNO), Z. MOCZARSKI (POZNAŃ),
W. MORACZEWSKI (LWÓW), ST. J. PRZYŁĘCKI (WARSZAWA)

VOL. XII, FASC. 2

AUXILIIS FUNDI CULTURAE NATIONALIS
JOSEPHI PIŁSUDSKII

VARSOVIE
RÉDACTION ET ADMINISTRATION:
INSTITUT NENCKI (SOC. SCI. VARS.)
8, RUE ŚNIADECKI
1938

[Aus dem Staatsinstitut für Hygiene, Kraków].

Józef Heller.

**Über den Einfluss der Temperatur auf die Ernährung,
(Gasaustausch und Wachstum der Raupen von *Deilephila*
Euphorbiae.**

(Untersuchungen über die Metamorphose der Insekten, XII)¹).

I.

In vorliegender Arbeit werden die Ergebnisse der in den Jahren 1931—1934 ausgeführten Versuche mitgeteilt. Die Untersuchungen wurden nicht zum beabsichtigten Abschluss gebracht und mussten aus äusseren Gründen abgebrochen werden. Seit jeher sind die umfassenden Untersuchungen von Białaszczyk ('36, '37 a und b) am Seidenspinner erschienen, wodurch eigene Ergebnisse in mancher Hinsicht überholt wurden. Da aber ein Vergleich des Seidenspinners mit dem nichtspinnenden Schwärmer interessante Unterschiede aufweisen kann (vergl. Heller '26), so erscheint die Bekanntgabe dieser Ergebnisse als begründet, besonders, was den Temperatureinfluss betrifft, welcher bisher von Białaszczyk nicht untersucht wurde.

II.

Die Respirationsversuche wurden nach dem manometrischen Prinzip im Apparat eigener Konstruktion ('32) ausgeführt. Dank seiner gedungenen Form liess sich der Apparat ohne Schwierigkeit im entsprechend eingestellten Thermostat unterbringen, so dass sein Wasserbad ohne besondere Einrichtungen eine konstante Temperatur behielt. Als Respirationskammern wurden die aus Jena'er Glastiegeln hergestellten Gefässe benutzt, von denen ich vor Kurzem ('37) am anderen Ort ausführlich berichtet habe.

¹) Vorgestellt in der Sitzung der Polnischen Physiologischen Gesellschaft am 13.V.1938.

Es wurden bestimmt: Die Gewichtszu- oder Abnahme, der Sauerstoffverbrauch, die Kohlensäureabgabe, sowie das Gewicht der verfütterten Wolfsmilch und des abgeschiedenen Kotes. Der Gasaustausch wurde auch während der Hungerperioden bestimmt und die Differenz zwischen dem Sauerstoffverbrauch bei der Fütterung und im Hunger berechnet.

Ein typischer Versuch hatte folgenden Verlauf: Die Raupe und ein Stück Wolfsmilch wurden gewogen und in einem Respirationsgefäss unterbracht. Der Unterteil des Gefässes wurde mit 2 ccm einer 10%-Kalilauge beschickt. Ein Kontrollgefäss enthielt nur die Wolfsmilch und Lauge, ein drittes die Lauge allein. Das letzte Gefäss diente als Thermo-Barometerkontrolle, das zweite hatte den Sauerstoffverbrauch der Wolfsmilch anzuzeigen. Der Manometerstand wurde alle 10—15 Minuten abgelesen und sogleich die Luft aus der kommunizierenden Bürette bis zum Ausgleich der Druckdifferenz nachgefüllt. Nach 4 bis 6 Ableesungen wurden die Gefässe zerlegt, ein Ersatz-Unterteil ohne Lauge angeschlossen und der Versuch zur Bestimmung der Differenz O_2 — CO_2 weiter geleitet. Diese Phase dauerte zumeist 2 Stunden, wonach die Raupe, der Rest der Wolfsmilch, sowie Kot gewogen wurden. Analog wurden Hungerversuche ohne Wolfsmilch ausgeführt.

In einer Reihe von Versuchen wurde zur Bestimmung der Kohlensäureproduktion die Lauge in einen Messkolben gespült (je nach der erwarteten CO_2 Menge von 10 bis 50 ccm Inhalt) mit dem destillierten, frisch ausgekochten Wasser zur Marke ergänzt und in 1 ccm der Lösung die Kohlensäure nach van Slyke in seinem Blutgasapparat mit Manometer bestimmt. Diese Methode ist genau und empfehlenswert, da man die Verdünnung der Lauge dem aus dem Sauerstoffverbrauche geschätzten Kohlensäuregehalt anpassen kann.

Da die kurzen Respirationsversuche zu stark schwankende Werte für die Gewichtsveränderung der Raupe und der Wolfsmilch sowie für Kotabgabe lieferten, so wurden sie in einer besonders angelegten Versuchsreihe bestimmt: Je nach der Grösse wurden einige oder eine Raupe gewogen und mit einer abgewogenen Menge Futter unter einer undichten Glasglocke während 6—12 Stunden im Thermostat gehalten, wonach die Wägung wiederholt wurde. Für das Gelingen war bei dieser Versuchsanordnung die den Raupen vorgelegte Menge Wolfsmilch ausschlaggebend: Wurde zu wenig gegeben, so verlief der Versuch teilweise z. B. während der Nacht, als Hungerversuch. War die Futtermenge zu gross, so wirkte der durch das Wasserverdunsten aus der Pflanze bedingte Fehler störend. Das Vertrocknen des Kotes bedingte auch einen namentlich bei jüngeren Raupen nicht zu unterschätzenden Fehler. Bei den Respirationsversuchen mit gleichzeitiger Fütterung bildete natürlich der Anteil der Pflanze am Gasaustausch eine Fehlerquelle, welche durch die Reduktion auf Grund der Ausschläge im Kontrollgefäss nur annäherungsweise kompensiert werden konnte. Da aber der ganze Sauerstoffverbrauch der Wolfsmilch nur etwa 10% desjenigen der Raupe ausmachte, so dürfte dieser Fehler nicht zu sehr ins Gewicht fallen.

Um die Grösse der durch verschiedene Fehlerquellen bedingten Streuung der Werte beurteilen zu können, wurde eine Messreihe (bei 30°) nach der Fehlerrechnung geprüft. Es ergab sich eine mittlere Streuung von 9% der gefundenen Mittelwerte. Die letzten dürfen also nicht etwa zu Bilanzberechnungen benutzt werden, können aber als eine Grundlage zur Betrachtung der Temperaturwirkung dienen.

III.

Bei der Darstellung der Ergebnisse wollen wir nicht die einzelnen Versuchsergebnisse anführen, sondern sie in grössere Gruppen zusammenziehen und die Mittelwerte besprechen. So haben wir die 82 bei 20° ausgeführten Versuche in Klassen von je 0.5 g Differenz der mittleren Gewichte der Raupen zusammengerechnet und in der 1. Tabelle zusammengestellt. Es werden hier Gewichtszuwachs, verzehrte Wolfsmilch, Kot, absorbierte Nahrung (Differenz: verzehrte Nahrung minus Kot) angeführt. Die Werte wurden sowohl für eine Stunde, wie auch für 1 Stunde und 1 g Gewicht z. Teil auch für 1 g Zuwachs berechnet.

Tabelle I.

Temperatur 20°

g Raupengewicht	Anzahl der Experimente	Auf 1 Stunde				Auf 1 g und 1 Stunde				Auf 1 g Zuwachs		
		Gewichtszuwachs mg	Verfütterte Wolfsmilch mg	K o t mg	Resorbierte Nahrung mg	Gewichtszuwachs mg	Verfütterte Nahrung mg	K o t mg	Resorbierte Nahrung mg	Verfütterte Wolfsmilch g	K o t g	Resorbierte Nahrung g
Unter 1	7	15.5	50.2	11.8	38.4	12.4	40.1	9.45	30.6	3.23	0.76	2.47
1—1.5	7	18.4	50.8	11.2	39.6	14.7	40.6	9.0	31.6	2.76	0.61	2.15
1.5—2	4	30.1	65.5	20.2	45.3	17.2	37.4	11.5	25.9	2.17	0.67	1.50
2—2.5	6	29.8	81.0	29.5	51.5	13.2	38.2	13.1	25.1	2.88	0.99	1.89
2.5—3	6	26.6	96.5	37.5	59.0	9.7	35.1	13.6	21.5	3.62	1.41	2.21
3—3.5	8	26.5	102.5	38.8	63.7	8.15	31.5	11.9	19.6	3.86	1.46	2.40
3.5—4	13	16.5	94.0	43.6	50.4	4.4	25.0	11.6	13.4	5.69	2.64	3.05
4—4.5	10	13.6	101.0	48.5	52.5	3.2	13.8	11.4	12.4	7.45	3.56	3.89
4.5—4	8	-25.0	25.0	35.4	—	-6.0	6.0	7.6	—	—	—	—
4—3.5	10	-14.6	—	2.25	—	-3.9	—	0.6	—	—	—	—
3.5—3	2	-8.1	—	—	—	-1.0	—	—	—	—	—	—

Wir sehen, dass die stündliche Nahrungsaufnahme mit dem Körpergewichte wächst (Kol. 4), doch hält sie dem Zuwachs

keineswegs gleichen Schritt (Kol. 8). Die Kotmenge dagegen wächst mit dem Körpergewichte (Kol. 5), die Werte auf dieses Gewicht bezogen (Kol. 9) bleiben also einigermaßen konstant. Demgemäss steigt die Menge der stündlich resorbierten Nahrung (Kol. 6) sehr langsam an, die auf Gewichtseinheit bezogenen Werte (Kol. 10) fallen also ständig. Diesen von Białaszevicz ('36) mitgeteilten Befund möchten wir übereinstimmend mit diesem Autor einer vollständigeren Entwässerung der Nahrung im Darne kleinerer Raupen zuschreiben. Es sprechen dafür: 1) ein mit dem Gewichte fallender Wassergehalt der Raupen (A b d e r h a l d e n¹⁾) und 2) der steigende Wassergehalt des Kotes, der aus der 2. Tabelle zu entnehmen ist:

Tabelle II.

Raupengewicht	Mittelwert von	Wassergehalt im Kot
1.0 — 2.0 g	5 Bestimmungen	26.1 %
2.0 — 3.0 „	9 „	46.8 %
3.0 — 4.0 „	14 „	54.1 %

Was für eine Bedeutung kommt dieser Wasseranhäufung im Körper zu? Wir glauben sie in Zusammenhang mit den Resorptionsprozessen im Darm in Zusammenhang bringen zu können. Białaszevicz ('36) gelangt zum Schluss, dass die im Darne resorbierte Nahrung eine 20.6% Lösung darstellt, in welcher namentlich kleinmolekulare, osmotisch wirksame Bestandteile enthalten sind. Er wirft also die Frage über den Mechanismus der Resorption, über die Rolle der verdünnenden Verdauungssäfte und die Regulierung des osmotischen Druckes im Blute auf. Wir haben vor Kurzem in einer Untersuchungsreihe, welche die Aufstellung der Phosphorbilanz während der Metamorphose bezweckte, das Gewicht des Blutes, des Fettkörpers, des Darmes sammt Inhalt und des Restes („Muskel“ nach dem hauptsächlichsten Bestandteile bezeichnet) bestimmt.

¹⁾ Aus der 1. Tabelle (Seite 94) von A b d e r h a l d e n ergeben sich für den Wassergehalt der Raupen folgende Werte:

Gewicht 1—2 g	84.4%
„ 2—3 „	82.6%
„ 3—4 „	78.5%

Von den Resultaten, welche demnächst ausführlich publiziert werden sollen, seien hier die Werte für die fressende, sowie 12 Stunden fastende Raupen angeführt:

	Blut		Fettkörper		„Muskel“*		Darm		Gewicht mg
	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	
Gefüttert:	683	18.7	372	10.2	809	22.1	1790	49.0	3650
12 St. fastend:	396	11.9	382	11.5	1660	49.8	882	26.8	3320

Die Werte „gefüttert“ wurden als Mittelwerte berechnet, diejenigen für „fastend“ wurden aus einem Versuch als Prozent gebildet und im mg-Werte auf Grund des durchschnittlichen Gewichtsverlustes während des Fastens umgerechnet. Im Höchsfalle fanden wir für den Darm ein Gewicht von 63.8%. In diesem Falle lieferte der Darm einer 4.47 g schweren Raupe 2.5 ccm einer klaren, grünen Flüssigkeit, mit einem Gehalt von 0.11% Eiweiss und 261 mg % Rest-N. Das Blut enthielt dabei 3.6% Eiweiss und 349 mg % Rest-N. Reduktionsfähigkeit wurde im Darmsaft einer anderen Raupe untersucht und zeigte einen Glukosegehalt von 0.65% an; da der Zuckergehalt der resorbierten Nahrung nach Białaszewicz etwa 5% beträgt, würde dies einer achtfachen Verdünnung entsprechen. Aus der oben gegebenen Zusammenstellung können wir entnehmen, dass das Wasser zu diesem Zwecke hauptsächlich dem Muskelgewebe entzogen wird, bis es zum Ausgleich des osmotischen Druckes kommt. Im Blute und in den Geweben wird dieser durch Aminosäuren und Kalium aufrechtgehalten. Für die Resorption der verdünnten Lösung ist wahrscheinlich der durch Eiweiss bedingte kolloid-osmotische Druck ausschlaggebend. In dieser Hinsicht ist der niedrige Eiweissgehalt des Saftes zu beachten. Die von Heller und Mokłowska ('30) beobachtete rapide Eiweissabnahme im Blute fastender Raupen, ist vielleicht eher einer Verschiebung als Metabolisierung des verschwundenen Eiweiss zuzuschreiben.

Kehren wir noch zu der I. Tabelle zurück und betrachten den Gewichtszuwachs, so finden wir ein Maximum bei 2 g, von dem ein langsames Abnehmen beginnt, um noch vor der Einstellung der Nahrungsaufnahme in einen Gewichtsverlust umzuschlagen. Auf Gewichtseinheit bezogen fällt der Zuwachs viel

rascher ab, doch ist dabei der wachsende Trockengehalt des Zuwachses im Auge zu behalten.

Es wurden ähnliche Experimente wie bei 20° auch bei 22° 25° und 30° ausgeführt, doch sind entsprechende Serien nicht so vollständig. Zu Vergleichszwecken wurden daher die Werte in Klassen von je 1 g Gewichtszuwachs zusammengezogen und nur die 3 Stufen von 1 bis 4 g berücksichtigt. Die erhaltenen Werte wurden in der III Tabelle zusammengestellt.

Tabelle III.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Temperatur °C	Raupengewicht g	Auf 1 Stunde				Auf 1 g Raupengewicht und 1 Stunde				
		Gewichtszuwachs mg	Verfütterte Wolfsmilch mg	K o t mg	Resorbierte Nahrung mg	Gewichtszuwachs mg	Verfütterte Wolfsmilch mg	K o t mg	Resorbierte Nahrung mg	Anzahl der Experimente
20	1—2	23.8	58.5	15.4	43.1	15.9	39.0	10.25	28.75	11
„	2—3	28.8	91.6	33.6	58.0	11.5	36.6	13.4	23.2	12
„	3—4	22.0	97.2	41.3	55.9	6.3	28.2	11.8	16.4	21
22	1—2	42.3	86.0	30.0	56.0	28.2	57.1	20.7	36.4	2
„	2—3	47.8	126.0	49.0	77.0	19.1	50.5	19.6	30.9	5
„	3—4	52.3	163.5	74.0	89.5	14.9	46.6	21.1	25.5	8
25	1—2	49.3	99.4	29.5	69.9	32.8	66.0	19.6	46.4	10
„	2—3	53.3	156.8	73.5	83.3	21.3	62.6	29.3	33.3	10
„	3—4	48.0	176.0	90.0	86.0	13.7	50.5	25.7	24.5	17
30	1—2	52.0	128.8	40.5	88.3	35.0	85.7	27.0	58.7	14
„	2—3	67.0	167.7	79.7	88.0	26.8	66.6	31.9	35.2	13
„	3—4	55.9	245.0	155.5	89.5	16.0	70.0	44.5	25.6	11

Die Werte dieser Tabelle wachsen mit steigender Temperatur, wobei aber der Temperatureinfluss nicht im ganzen untersuchten Temperaturbereich und nicht bei allen Gewichtsklassen gleich ist. Betrachten wir den Gewichtszuwachs auf 1 g bezogen (Kol. 7), so sehen wir, dass die Werte am stärksten bei den Raupen von 1—2 g wachsen. Bei den mittelschweren ist dieser Einfluss schwächer, bei den 3—4 g schweren Raupen ist er zwischen 22—30° kaum nachzuweisen. Die Kurven (Abbildung 1) konvergieren gegen die Temperatur von 18°, welche den biologischen Nullpunkt für das Raupenwachstum darzustellen scheint. Jeden-

fals gelingt es nicht Raupen bei der konstanten Temperatur 18° oder darunter aufzuziehen und sogar bei 20° ist es praktisch erst möglich, nachdem sie die letzte Raupenhäutung durchge-

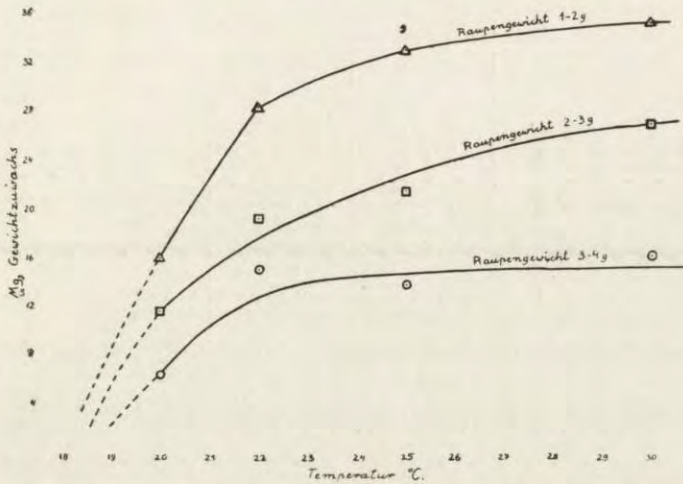


Fig. 1. Stündlicher Gewichtszuwachs der Raupen auf 1 g Körpergewicht bezogen.

macht haben. Möglicherweise gilt dieser Nullpunkt für das eigentliche Wachstum d. h. Gewebsbildung und nicht für das Ablegen der Reserven. Wir werden diese Temperaturabhängigkeit weiter unten bei der Darstellung der Respirationsversuche ausführlicher besprechen.

IV.

Ergebnisse der Respirationsversuche geben wir in der IV Tabelle wieder. Es wurden hier nur Versuche mit Raupen über 2 und unter 4.5 g Gewicht aufgenommen, weil nur bei diesen vergleichbare Werte (auf 1 g und 1 St. berechnet) erhalten werden. Kleinere Raupen haben (auf Gewichtseinheit bezogen) höheren Sauerstoffverbrauch, bei schwereren schwindet der Unterschied zwischen dem Hungerumsatz und demjenigen beim Füttern. Letzteres ist besonders bei höheren Temperaturen zu beobachten, so dass bei 30° hauptsächlich mittelschwere Raupen

untersucht wurden. Die Werte bei 18.3°, 22° und 30° stellen Mittelwerte, die anderen individuelle Daten dar¹⁾.

Tabelle IV.

Temperatur °C	Sauerstoffverbrauch		
	Gefüttert	Im Hunger	Differenz
	ccm per Kilogram und Stunde		
15.2	437	—	—
16.5	—	472	—
17.5	634	—	—
18.3	618	530	88
19.5	710	538	172
22.0	894	654	240
26.0	1280	684	596
30.0	1485	755	730

Werden die Werte der IV Tabelle graphisch dargestellt (fig. 2), so ergibt sich ein Bild, welches uns von der Puppenperiode her bekannt ist (Heller '32). Wir haben mit drei Geraden zu tun. Die erste, schwach gegen die Temperaturchse geneigt, schneidet dieselbe in der Nähe von 0°. Diese Gerade entspricht dem Hungerumsatz; bei der Puppe haben wir sie unter dem Nullpunkt der Entwicklung (9°) beobachtet und als Grundumsatzlinie gedeutet. Die zweite, welche bei 9° die Temperaturaxe schneidet, entspricht den Werten aus den Fütterungsversuchen. Bei den Puppen finden wir die gleiche Temperaturabhängigkeit bei den Entwicklungsprozessen während der Überwinterung. Die dritte Linie, aus der Differenz beider vorigen Reihen gebildet, hat ihren Anfang bei 18°. Sie stellt den Atmungsanteil dar, der auf die Nahrungsaufnahme und die mit ihr verbundenen Vorgänge entfällt. Eine ähnliche Gerade ist bei den Puppen nur kurz nach der Verpuppung und vor dem Ausschlüpfen des

¹⁾ Ein atypischer Versuch bei 16.5° wurde nicht in die Tabelle aufgenommen: Die Raupe frass gierig (24.9 mg Wolfsmilch per 1 g und Stunde) verbrauchte 895 ccm O₂ per kg/St., gab 747 ccm CO₂ per kg/St. ab, was einem nicht sonst beobachteten RQ 0.833 entsprach. Gleichzeitiger Hungerversuch ergab 465 ccm Sauerstoffverbrauch und 309 ccm CO₂-Produktion per kg/St. mit einem RQ 0.665. Unerwarteter Weise entfällt bei dieser niedrigen Temperatur fast die Hälfte des Sauerstoffverbrauches auf den Ansatz. Über die Bedeutung derartigen Ausnahmen sind wir noch im Unklaren.

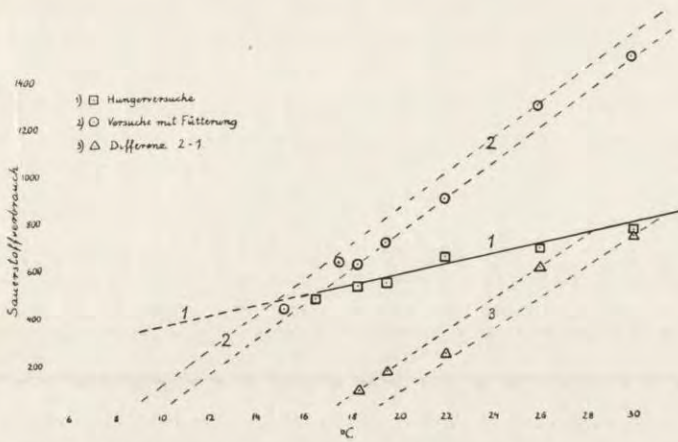


Fig. 2. Sauerstoffverbrauch der Raupen in cm per kg und 1 Stunde in Abhängigkeit von der Temperatur.

Schmetterlings zu beobachten, wir vermissen sie während der Latenz. Interessanter Weise lässt sich diese Gerade bei den Puppen ausser auf Grund der Respirationsversuche auch in anderer Weise konstruieren: Merkt man die Zeit, zu welcher die ersten farbigen Flecken auf den Flügeln der Puppe erscheinen, so erfolgt das Ausschlüpfen des Falters

bei 22° nach 6 Tagen

„ 26° „ 3 „

„ 30° „ 2 „ was einer Geraden von der Gleichung: $(t^{\circ} - 18^{\circ}) \cdot \text{Zeit} = 24$ entspricht. Die Werte liegen also auf einer Geraden welche die Zeitachse bei 18° schneidet.

Wir möchten hier an die Abb. 1 erinnern, wo die Kurven, welche den Gewichtszuwachs der Raupen in Abhängigkeit von der Temperatur darstellen, auch gegen 18° konvergieren.

Es ist also die Temperatur von 18° ein biologischer Nullpunkt, unterhalb welchem die Metamorphose nicht vollzogen wird. Er stellt aber keineswegs den Nullpunkt für alle Entwicklungsprozesse dar. Es können z. B. subitane Puppen bei einer niedrigeren Temperatur (zwischen 9° und 18°) — in ihrer Entwicklung bis zur vollen Ausfärbung der Flügel gebracht werden — zum Ausschlüpfen kommen sie aber erst nach entsprechend langem Aufenthalt in einer höheren Temperatur.

Wir glauben, dass das von uns ('32) auf Grund der Respiationsversuche festgestellte Vorkommen von zwei physiologisch verschiedenen „Nullpunkten der Entwicklung“ durch diesen wiederholt gelungenen Zuchtversuch bekräftigt wurde. Dadurch werden manche Schwierigkeiten der experimentellen Entomologie behoben, die mit der Anwendung der Blunck'schen Regel und des Begriffs des Nullpunktes verbunden sind in jenen Fällen, in denen ein Teil der Entwicklung unter dem Nullpunkt verläuft (vergl. D. Ludwig und Cable '33, auch Parker '30, Seite 52). Die Methode der Zuchtexperimente liess nur den Punkt bestimmen, bei welchem die Metamorphose noch vollendet werden kann, gab aber keine Möglichkeit die Temperatur zu bestimmen, bei welcher alle Entwicklungsprozesse ruhen. Die Analyse des Sauerstoffverbrauches der Puppen in Abhängigkeit von der Temperatur erlaubte uns diese Lücke zu füllen.

Die mit der Nahrungsaufnahme verbundenen Prozesse betrachten wir hauptsächlich als Baustoffwechsel, die Fressarbeit als solche scheint einen kleinen Teil von ihnen zu bilden. Dies folgt aus den Experimenten aus jener späteren Periode, wo der Gewichtszuwachs aufhört, die Nahrung aber noch aufgenommen wird; der Sauerstoffverbrauch wird dann in den Hunger und Fütterungsversuchen fast gleich. Bei genauer Betrachtung der IV Tabelle und der 2 Abbildung sehen wir, dass je höher die Temperatur, desto grösseren Anteil am Gesamtumsatz der Baustoffwechsel hat. Der Erhaltungsumsatz wächst nämlich viel langsamer mit der Temperatur als der Gesamtumsatz, es bleibt also immer mehr für den Baustoffwechsel übrig. Dieser Tatsache gedenkend wollen wir nochmals die III Tabelle betrachten.

V.

In den Werten der III Tabelle spiegeln sich ab und kreuzen zwei Einflüsse: des wachsenden Körpergewichtes und der Temperatur. Um sie getrennt betrachten zu können, bilden wir für jede Gewichtsklasse einen Mittelwert, so, dass der Temperatureinfluss verwischt wird und der andere desto klarer hervortritt. Diese Mittelwerte sind in der V Tabelle zusammengestellt,

Tabelle V.

1	2	3	4	5	6	7	8
Raupengewicht	Gewichtszuwachs	Verfütterte Wolfsmilch	K o t	Resorbierte Nahrung	Differenz: Verfütterte Wolfs-, minus Zuwachs	Futterverbrauch berechnet	Differenz aus Kol. 7-8
g	mg in 1 Stunde						%
1 — 2	41.8	93.2	28.8	64.4	51.4	94.3	+ 1.2
2 — 3	49.2	135.5	59.0	76.5	86.3	136.7	+ 0.9
3 — 4	44.5	170.5	90.2	80.3	126.1	167.0	- 2.1

auf deren Grund die Vorgänge beim Wachstum von 1 g auf 4 g schematisch wie folgt charakterisiert werden können: der stündliche Gewichtszuwachs ist ungefähr konstant (45 mg). Die verfütterte Wolfsmilchmenge wächst mit dem Körpergewicht, jedoch langsamer als dieses: die durchschnittlichen Körpergewichte verhalten sich wie 1:1.66:2.33, die Wolfsmilchgewichte wie 1:1.46:1.93. Die Kotproduktion dagegen steigt schneller an, als es dem Ansatz entsprechen würde und zwar im Verhältniss von 1:2.05:3.1. Dementsprechend wächst die Menge der im Darm resorbierten Nahrung nur unwesentlich mit dem Körpergewichte und entspricht in einzelnen Gewichtsklassen dem Verhältniss von 1:1.19:1.25.

Das Bild verändert sich aber, wenn wir den wechselnden Wassergehalt des Kotes nach Tabelle II berücksichtigen. Dann bekommen wir für den Zuwachs an Kotproduktion und an der resorbierten Nahrungsmenge ein Verhältniss ungefähr dem an verzehrter Nahrung, das ist 1:1.46:1.93 gleich.

Der Stoffwechsel eines wachsenden Tieres wird in zwei Teilgrößen zerlegt: in den Bau- und Erhaltungsstoffwechsel. Analog denken wir uns auch den Futterverbrauch aus zwei Teilen bestehend, deren einer zur Deckung des Baustoffwechsels, der andere des Erhaltungsstoffwechsels dient. Wir machen nun die naheliegende Annahme, dass der erste pro Gram Gewichtszuwachs konstant ist, der zweite mit dem mittleren Körpergewichte proportional wächst. In unserer V Tabelle ist der erste

Anteil durch Gewichtszuwachs representiert, den anderen finden wir in der Kol. 6 als Differenz zwischen der verfütterten Wolfsmilch und dem Zuwachs. Die Werte dieser Kolonne stehen zueinander im Verhältniss wie 1:1.68:2.45. Wenn man die starke Streuung unserer Experimentergebnisse berücksichtigt, so muss man die Annäherung an das theoretische Verhältniss 1:1.66:2.33 als befriedigend betrachten. Es kann also der stündliche Nahrungsverbrauch aus der Formel:

$$N(\text{ahrungsverbrauch}) = Z(\text{uwachs}) + K.M(\text{ittleres Körpergewicht})$$

berchnet werden.

In der V Tabelle (Kol. 7) geben wir die Werte auf Grund von $K = 35$ berechnet an und finden eine genügende Übereinstimmung mit den Zahlen der 3 Kolonne.

VI.

Im vorigen Abschnitt haben wir den Einfluss des wachsenden Körpergewichtes analysiert. Als Grundlage dienten uns Mittelwerte, welche einer mittleren Temperatur von 24.25° entsprechen (Mittel aus $20, 22, 25$ und 30°). Wir sehen, dass jener Einfluss leicht verständlich wird, wenn wir den Stoffumsatz in Bau- und Erhaltungsstoffwechsel zerlegen und beide zuerst getrennt betrachten. Aus den Respirationsversuchen haben wir nun den Einfluss der Temperatur auf das gegenseitige Grössenverhältniss dieser beiden Teilumsätze kennen gelernt. Wir wissen, dass mit steigender Temperatur der Bauumsatz nicht nur absolut, sondern auch relativ, auf Kosten des Erhaltungsumsatzes, wächst. Wenn wir also die Werte der V Tabelle als Basis unserer Betrachtungen nehmen, so können wir erwarten, dass bei 20° der auf den Erhaltungsstoffwechsel entfallende Nahrungsverbrauch im Verhältniss zum ganzen grösser sein wird als bei 24° , bzw. 25° , bei 30° dagegen kleiner. Um bei dieser Betrachtung den Einfluss der Körpergrösse zu eliminieren, summieren wir die Werte der III Tabelle nach der anderen Richtung, nach gleichen Temperaturen und erhalten so die VI Tabelle, in welcher der Anteil des Erhaltungsumsatzes an der Nahrungsaufnahme in Prozenten der ganzen Menge der verfütterten Wolfsmilch berechnet wurde (Kol. 5).

Tabelle VI.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Temperatur	Gewichtszuwachs	Verfütterte Wolfsmilch	Differenz: Kol. 3—2	Verfütterte Wolfsmilch minus Zuwachs	K o t	Resorbierte Nahrung	Differenz 3—6	Zuwachs in % der resorbierten Nahrung	Auf 1 g Zuwachs verfütterte Wolfsmilch
°C	mg in 1 Stunde			%	mg in 1 Stunde		%	%	g
20	24.8	82.4	57.6	70.3	30.1	52.3	63.5	47.5	3.32
22 ¹⁾	47.5	125.2	77.7	62.0	51.0	74.2	59.1	64.0	2.64
25	50.2	144.1	93.9	64.7	64.3	79.8	55.2	63.0	2.88
30	58.3	180.5	122.2	67.6	91.9	88.6	46.5	65.7	3.10

1) Bei der Besprechung der Tabelle VI im Text wurden die Werte bei 22°, weil auf verhältnismässig kleinem Material fussend, nicht berücksichtigt.

Wir sehen, dass unsere Voraussetzung nur für 20° zutrifft. Für 30° finden wir statt der erwarteten Verminderung eine Vergrösserung dieses Anteils. Wo kann die Ursache dieser auffallenden Unstimmigkeit mit den Resultaten der Respirationsversuche liegen?

Die Lösung dieser Frage bringt uns dieselbe Tabelle VI in der 8. Kol. welche den im Darm resorbierten Teil der gefressenen Wolfsmilch angibt. Es folgt klar aus den Werten dieser Kolonne, dass die Resorption mit steigender Temperatur unvollständiger wird. Dies ist begreiflich, da die Resorption wenigstens zum Teil auf physikalischen Prozessen beruht, deren Intensität in dem von uns untersuchten Temperaturintervall nicht wesentlich wachsen kann. So kommt es, dass bei 30° ein Grenzwert erreicht wird, der trotz erhöhter Nahrungsaufnahme nicht mehr überschritten wird. Dieser Grenzwert: 89 mg in der Stunde ist bei den 1—2 g schweren Raupen noch ausreichend, da der resorbierte Anteil (68.5%) nicht allzusehr von dem bei anderen Temperaturen (73.0 bei 20° und 70.4% bei 25°) abweicht. Bei den mittelschweren Raupen aber finden wir schon bei 25° und 30° nur 52.5—53% resorbiert, gegen 63.1% bei 20° (Tabelle VII).

Am grössten ist dieser Temperatureinfluss bei den 3—4 g schweren Raupen; hier fällt die Resorption von 57.3% bei 20° auf 36.0% bei 30°.

Tabelle VII.

Resorption in %% der verfütterten Wolfsmilch			
Raupengewicht	20°	25°	30°
1—2 g	73.0	70.4	68.5
2—3 „	63.1	53.0	52.5
3—4 „	57.3	48.9	36.0

Der mit dem wachsenden Raupengewichte fallende Grad der Resorption bei 20° lässt sich ohne Rest durch steigenden Wassergehalt des Kotes erklären. Wird auf Grund der II Tabelle der Trockengehalt des Kotes in mg bestimmt, auf Frischgewicht von 26% Wassergehalt umgerechnet und der erhaltene Wert von dem für verzehrte Wolfsmilch abgezogen, so bekommt man für die „reduzierte Resorption“ bei 20°:

Raupe 1—2 g 73%

„ 2—3 „ 75%

„ 2—4 „ 71.5%, durchschnittlich 73%. Führt man analoge Rechnung für 30° aus, so bekommt man bzw. 68.5, 66.0 und 60.5%.

Man könnte zu unseren Betrachtungen über die Resorption einwenden, dass die absoluten Werte mit dem Körpergewichte eigentlich wachsen sollten, da die resorbierende Fläche, wenn auch nicht im gleichen Schritt, immerhin aber wächst. Dies dürfte aber durch einen entgegengesetzt wirkenden Faktor ausgeglichen werden: Der Kot besteht nämlich nicht nur aus nicht-resorbierten Nahrungsresten, sondern auch aus metabolischen Abfallstoffen. So beteiligt sich das metabolisierte Eiweiss mit rund 48% seines Gewichtes in der Form der Harnsäure an der Kotproduktion. Solange der Anteil dieser beiden Quellen an der Zusammensetzung des Kotes in einzelnen Perioden nicht bekannt ist, können wir den Kotwert nicht entsprechend reduzieren und erhalten für die Resorption zu niedrige Werte. Deswegen haben wir eben zur Charakterisierung des Erhaltungstoffwechsels nicht die resorbierte, sondern die verzehrte Nahrung in Betracht genommen, umso mehr, als der Anteil der Exkrete an Kotproduktion mit wachsendem Körpergewicht wahrscheinlich steigt.

Wir haben in der VI Tabelle auch die auf 1 g Gewichtszuwachs entfallende Wolfsmilchmenge berechnet. In dieser Hinsicht können wir 25° als Optimaltemperatur betrachten, doch sind die Differenzen keineswegs gross und man könnte von einem konstanten Verbrauch von 3.1 g Wolfsmilch auf 1 g neugebildeter Körpersubstanz sprechen. Wir haben aber gesehen, dass diese scheinbare Konstanz (die auch von Białasze wicz beim Seidenspinner bei einer Temperatur beobachtet wurde) durch ein Zusammenspielen von zwei ganz verschiedenen Faktoren zustande kommt. So sei hier bemerkt, dass unserer Wert 3.1 g nur für das Wachstum von 1 auf 4 g gilt. Der Wert für die ganze Wachstumsperiode (wie bei Białasze wicz) muss höher sein, da er das Endstadium mit schwachem Zuwachs und starkem Nahrungsverbrauch (Tabelle I) mitberücksichtigt.

Aus obigen Betrachtungen ergibt sich ein Schluss über das ökonomische (mit kleinstem Nahrungsverbrauch) Aufziehen der Raupen: Man soll kurze Fütterungsperioden bei einer hohen Temperatur (optimal oder höher) mit Hungerperioden bei niedriger Temperatur abwechseln. So könnte man den Vorzug des schnellen Wachsens bei höherer Temperatur mit dem einer guten Ausnützung der Nahrung im Darm bei niedriger Temperatur verbinden. Einen Beweis für die Richtigkeit dieser Voraussetzung können wir in den Ergebnissen von Parker ('30) sehen.

Dieser Forscher zog Nymphen von *Melanoplus mexicanus* teils bei konstanter Temperatur von 27°, 32° und 37° auf, teils intermittierend, indem nach Fütterung bei einer der genannten Temperaturen eine Periode bei 12° ohne Futter folgte. In letztgenannten Experimenten liess sich während der ganzen Nymphenperiode eine Nahrungersparnis bis zu 24% gegen den Verbrauch bei konstanter Temperatur erzielen. Die Werte bei konstanten Temperaturen sind untereinander ungefähr gleich, analog wie beim Wolfsmilchschwärmer.

Auch in der Arbeit von Kopeć ('37), welcher beim Aufziehen von *Lymantria*-Raupen durch das Einschleichen von Hungerperioden (bei konstanter Temperatur) einen günstigen Ein-

fluss auf die Grösse und Gewicht der Raupen erzielte, ist an den Einfluss der vollständigeren Resorption zu denken.

Beim Wolfsmilchschwärmer sind von uns Untersuchungen über das Aufziehen beim möglichst kleinsten Futterverbrauch beabsichtigt.

Zusammenfassung.

1°. Es wurde der Einfluss der Temperatur auf die Ernährung und Wachstum der Raupen des Wolfsmilchschwärmers zwischen 1 und 4 g Körpergewicht untersucht. Parallel wurde die Sauerstoffaufnahme im Hunger und bei Fütterung in Abhängigkeit von der Temperatur bestimmt.

2°. Bei der Analyse des Temperatureinflusses auf die Nahrungsaufnahme denken wir uns den Stoff- und Energieumsatz als aus zwei Teilgrössen—dem Bau- und Erhaltungsstoffwechsel zusammengesetzt. Der erste ist dem Gewichtszuwachs proportional und gibt sich auch in Respirationsversuchen kund als Mehrverbrauch von Sauerstoff bei Fütterung über den Verbrauch im Hunger bei derselben Temperatur. Der andere wird als Differenz der Gewichte der verzehrten Wolfsmilch und des Ansatzes (Zuwachses an Körpergewicht), oder als Sauerstoffverbrauch in Hungerversuchen ausgedrückt.

3°. Der Einfluss der Temperatur auf diese zwei Teilströme ist nicht gleich. Der Baustoffwechsel hat seinen biologischen Nullpunkt in der Nähe von 18° und steigt rasch mit der Temperatur an, ganz wie jener Teil des Entwicklungsumsatzes der Puppe, welcher nur kurz nach der Verpuppung und einige Tage vor dem Ausschlüpfen zu finden ist.

Der Erhaltungsstoffwechsel hat seinen Nullpunkt in der Nähe von 0° und steigt nur langsam mit der Temperatur an, ähnlich, wie es für den „Grundumsatz“ der Puppen beschrieben wurde. Im Gegensatz zum Baustoffwechsel ist seine Grösse nicht nur von der Temperatur, sondern auch vom Körpergewichte abhängig.

Es wird eine Formel angegeben, welche es ermöglicht, aus dem Gewichtszuwachs und dem mittleren Raupengewicht die Futteraufnahme während des Experimentes zu berechnen.

4°. Verschiedene Temperaturabhängigkeit beider Teilmassätze bedingt eine Verschiebung zugunsten des Baustoffwechsels, welcher mit steigender Temperatur einen immer grösseren Anteil am Gesamtumsatz gewinnt. Doch wird dieser Verschiebung und dem günstigen Einfluss der Temperatur auf die Oekonomie des Wachstums eine Grenze durch das Erreichen der Höchstleistung der Resorption im Darm gesetzt. Diese wird bei 30° bei der 2 g schweren Raupe mit etwa 90 mg in der Stunde erreicht.

Bei begrenzter Resorptionsmöglichkeit muss beim steigenden Erhaltungsstoffwechsel der Anteil des Baustoffwechsels fallen.

5°. Der Temperatureinfluss auf die Ernährung und Wachstum der Raupen wird also durch zwei Umstände kompliziert:

a) Durch Veränderungen im Anteil des Bau- und Erhaltungsstoffwechsel am Gesamtumsatz, indem der Anteil des ersten mit der Temperatur wächst und mit dem Körpergewichte zugunsten des zweiten fällt.

b) Dadurch, dass bei höheren Temperaturen schon bei mittleren Körpergewichten die Nahrungsresorption im Darne zum begrenzenden Faktoren wird.

6°. Durch Zusammenwirken aller dieser Umstände kommt es zur scheinbaren Unabhängigkeit von der Temperatur der auf 1 g Körperanastz entfallenden Futtermenge. Dennoch lässt sich ein Optimum bei 25° gegen 20° und gegen die Temperatur des schnellsten Wachstums (30°) unterscheiden.

7°. Es wird geschlossen, dass der kleinste Futtermittelverbrauch durch das Füttern bei hoher Temperatur mit nachfolgender Verdauung und Resorption in der Kälte zu erreichen wäre.

L i t e r a t u r.

- Abderhalden E. 1923. Studien über das Wachstum der Raupen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 127 (93). — Białaszewicz K. 1936. Badania nad przemianą materii i energii w czasie rozwoju owadów. III. O odżywianiu się jedwabnika (*Bombyx mori* L.) w ostatnim okresie wzrostu. Acta Biol. Exper. 10 (352). — Białaszewicz K. 1937 a. IV. Zmiany składu chemicznego jedwabników w ostatnim okresie ich życia larwalnego. Acta Biol. Exper. 11 (20). — Białaszewicz K. 1937 b. V. O oddy-

chaniu jedwabnika i o efekcie cieplnym wzrostu. *Acta Biol. Exp.* 11 (229). — Heller J. 1926. Untersuchungen über die Metamorphose der Insekten. IV. Spinner und Schwärmer. *Biochem. Z.* 172 (59). — Heller und Mokłowska 1930. Untersuchungen etc. VII. Über die Zusammensetzung des Raupenblutes bei *Deilephila euphorbiae* und deren Veränderungen im Verlauf der Metamorphose. *Biochem. Z.* 219 (473). — Heller J. 1930. Sauerstoffverbrauch der Schmetterlingspuppen in Abhängigkeit von der Temperatur. *Z. vergl. Physiol.* 11 (448). — Heller J. 1937. Ein Mikrorespirationsgefäß für bewegliche Objekte. *Biochem. Z.* 291 (245). — Kopeć S. 1937. O dodatnim wpływie głódówek na wzrost larw brudnicy nieparki. *Sprawozdania Tow. Nauk Warsz.* 30 (161). — Ludwig D. and Cable R. M. 1933. The effect of alternating temperatures on the pupal development of *Drosophila melanogaster* Meig. *Physiol. Zool.* 6 (493). — Parker J. R. 1930. Some effects of temperature and moisture upon *Melanoplus mexicanus* Saussure and *Camnula pellucida* Scudder (Orthoptera). *Bull. Univ. Montana Agric. Exper. Sta.* 223. 1—132.

[Physiologisches Institut der Joseph Piłsudski Universität, Warszawa].

N. Berend (Budapest).

Über den Zusammenhang zwischen der Sekretionsgeschwindigkeit und der Zusammensetzung des Darmsaftes¹⁾.

Nach der Ansicht **P a w l o w s** ist die Zusammensetzung der Sekrete der Verdauungsdrüsen nur von der Qualität des Reizes abhängig. Dem entgegen fand **C z u b a l s k i**, dass die Zusammensetzung des Pankreassaftes sich bei gleichbleibendem Reiz mit der Geschwindigkeit der Sekretion änderte, indem der langsam sekretierte Saft weniger alkalisch, Chlorid- und Fermentreicher war, als der schnell sekretierte. Im Speichel der Parotisdrüse fanden **B i e ń k a** und **S z c z e p a ń s k i** entgegengesetzte Verhältnisse. Der schnell sekretierte Saft war Cl-reicher und eher sauer, als der langsame. Ähnliche Untersuchungen sind zur Zeit im Physiologischen Institut der Józef Piłsudski Universität am Magensaft und Submandibularis-Speichel im Gange. In dieser Arbeit sind Versuche mitgeteilt, die den Zweck hatten, dieselbe Frage auch am Darmsaft zu klären.

Die Versuche wurden an 3 nach **T h i r y - V e l l a** operierten Hunden ausgeführt. Die Saftentnahme erfolgte mit Trichtern, deren untere Öffnung in einen Messzylinder mündete. Der Darmsaft wurde nach mechanischen und chemischen Reizen gesammelt, und dann wurden in diesem Saft die Wasserstoffionenkonzentration, Chloride und Fermente bestimmt.

Die Wasserstoffionenkonzentrationsbestimmungen wurden mit dem **P o g g e n d o r f s c h e n** Kompensationsverfahren in der Mikroelektrode von **W i n t e r s t e i n**, Chloridbestim-

¹⁾ Vorgestellt in der Sitzung der Polnischen Physiologischen Gesellschaft am 13.I.1938.

mungen nach der Methode von Whitehorn an 0.1 ccm Saft mit dreifach verdünnten Lösungen ausgeführt. Erepsin und Enterokinase wurden mit der Formoltiration von Soerensen bestimmt. Substrat war bei Erepsin Wittepepton, bei Enterokinase Gelatine nach Winterstein. Invertasebestimmungen wurden durch Bestimmung der Zunahme der freien Aldehydgruppen mit der jodometrischen Aldosemethode von Willstätter ausgeführt.

Die Versuche zeigen, dass der schnellsekretierte Saft isolierter Darmschlingen weniger alkalisch ist und enthält weniger Chloride, als der langsam sekretierte. Die Schwankungen der Enzymmengen sind unregelmässig.

[Physiologisches Institut der medizinischen Fakultät der J. Piłsudski
Universität, Warszawa].

J. Walawski und Br. Zawadzki.

**Vorversuche zur Unterscheidung der Reizung und des Tonus
des Vagus im Zusammenhang mit der Theorie der chemischen
Übertragung von Nervenimpulsen ¹⁾.**

Vorläufige Mitteilung.

Walawski und Rasolt ('33) stellten fest, dass das in grossen Dosen ins Blut von Versuchstieren eingespritzte Präparat vom Mutterkorn Tartrat der Ergotamin (Gynergen „Sandoz“) die Ausmasse der T-Wellen des Elektrokardiograms steigert. Die auf diese Weise vergrösserte T-Welle kehrt nach Durchschneidung der Vagusnerven sofort in ihre Norm zurück; dasselbe erfolgt nach Reichung von Atropin. Andererseits verursacht unmittelbare Reizung des peripheren Endes des durchschnittenen N. vagus eine Senkung der T-Welle. Die Verfasser erklärten das Ansteigen der T-Welle nach Gynergen durch eine Steigerung des Tonus des N. vagus und stellten den Effekt des erhöhten Tonus dem Effekt der unmittelbaren Reizung gegenüber, die eine entgegengesetzte Wirkung auf die T-Welle ausübt. Im Lichte der Theorie von der chemischen Übertragung von Nervenimpulsen könnte man unserer Meinung nach den Unterschied zwischen Tonus und der Reizung des N. vagus derart auffassen, dass Acetylcholin (A. Ch), das die Impulse der Vagusfasern überträgt, im Tonuszustand in geringen Mengen aus den Nervenendigungen ausgeschieden wird, dagegen bei Reizung die Menge des ausgeschiedenen A. Ch. bedeutend grösser wird. Wenn diese Vermutung richtig ist, so kann man eine gewisse

¹⁾ Vorgestellt in der Sitzung der Polnischen Physiologischen Gesellschaft am 17.II.1938.

optimale Konzentration von A. Ch. im Herzen annehmen, die die höchste T-Welle verursacht. Sowohl eine Verminderung als auch eine Steigerung würden Abweichungen vom optimalen Zustand und eine Herabsetzung der T-Welle bewirken. Hierbei müsste man annehmen, dass der normale nicht gereizte Vagus geringe A. Ch. Mengen ausscheidet die infolge einer durch die im Herzen befindliche Esterase verursachten Hydrolise sich nicht in der für die T-Welle optimalen Konzentration ansammeln kann. In Anbetracht dessen, dass Gynergen, wie Loewi und Navratil ('26) nachwiesen, die Tätigkeit der Esterase hemmt, wird sich nach Einführung von Gynergen A. Ch. ansammeln können, sich der optimalen Konzentration nähern und dadurch die T-Welle steigern. Die Durchschneidung des Vagus in dem Zustand verhindert eine weitere Abgabe von A. Ch., infolge dessen ihre Konzentration durch Diffusion und teilweise durch Einwirkung der Esterase unter das Optimum sinkt und die T-Welle sinkt. Andererseits verursacht die Reizung des Vagus eine übermäßige Abgabe von A. Ch., entfernt also ihre Konzentration vom Optimum und bewirkt eine Senkung der T-Welle.

Gegen diese Annahme sprach der Umstand, dass Walawski und Rasolt (l. c.) nach Physostigmin, das ähnlich wie Ergotamin die Wirkung von Esterase hemmt und A. Ch. schützt, eine Senkung der T-Welle erhielten.

Um festzustellen, ob der Unterschied des gesteigerten Tonus des Vagus und seiner Reizung darauf beruht, dass wir im ersten Falle eine kleine Zunahme der A. Ch. - Konzentration zu verzeichnen hatten, im zweiten Falle die Konzentration bedeutend ansteigt, führten wir folgende Experimente durch. 1. Wir untersuchten genauer den Einfluss von Physostigmin auf die T-Welle des EKG. 2. Wir prüften den Einfluss von Gynergen auf die T-Welle bei erhaltenen und durchschnittenen Vagusnerven. 3. Wir untersuchten den Einfluss verschiedener Dosen von A. Ch. auf die T-Welle an Tieren, die normal oder mittels Gynergen oder Physostigmin behandelt waren bei erhaltenen oder durchtrennten Vago-Sympathicus Stämmen. Die Versuche wurden an Hunden in Chloralose-Narkose oder an gehirnlosen Hunden ausgeführt, indem der Blutdruck registriert und das

Elektrokardiogram verzeichnet wurde. Die untersuchten Stoffe wurden intravenös eingeführt.

Die Ergebnisse der Voruntersuchungen sind folgende. 1. Wir stellten fest, dass Physostigmin (0.15 mg auf 1 kg) nach längerer Einwirkungszeit in allen (6) Fällen die T-Welle vergrösserte. Dagegen unmittelbar nach Einführung erhielten wir in zwei Fällen anfänglich eine Senkung der T-Welle, die dann in eine Steigerung überging. 2. Gynergen (1 mg auf 1 kg) steigert in allen Fällen (4) die T-Welle. 3. Das Durchschneiden der Vagi setzte in 4 Fällen die durch Gynergen oder Physostigmin erhöhte T-Welle herab, dagegen in einem Falle steigerte es sie aus unbekanntem Gründen. 4. A. Ch. in sehr kleinen Mengen verabreicht (etwa 1 γ auf 1 kg) wirkt auf die T-Welle nicht ein, obgleich es eine unbedeutende Blutdrucksenkung verursachte. In mittleren Dosen (ungefähr 5 γ auf 1 kg) rief es eine länger oder kürzer dauernde Steigerung der T-Welle hervor (in insgesamt 8 Fällen). Manchmal bei etwas grösseren Dosen trat unmittelbar nach Einführung von A. Ch. eine Verringerung der T-Welle auf, die dann einer Steigerung wich. Schliesslich gaben grosse Dosen von A. Ch. (ungefähr 10—100 γ auf 1 kg) eine Herabsetzung der T-Welle, die durch Physostigmin oder Gynergen gesteigert war (in 6 Fällen). Aus diesen Versuchen wurde hervorgehoben, dass im Zustand des physiologischen und gesteigerten Tonus des Vagus kleine bzw. mittlere Mengen von A. Ch., dagegen im Zustand ihrer Reizung grosse Mengen ausgeschieden werden.

Literatur.

Loewi O. und Navratil E. 1926. Über humorale Übertragbarkeit der Herznervenwirkung. XI. Mitteilung. Über den Mechanismus der Vaguswirkung von Physostigmin und Ergotamin. Pflüg. Arch. 214 (688). — Walawski J. i Rasolt H. 1933. Badania nad kształtowaniem się fali T elektrokardiogramu pod wpływem tonicznego pobudzenia układu obokwspółczulnego. Med. Dośw. i Społ. 16 (199).

[Medizinisch-chemisches Institut der Universität Lwów].

Tadeusz Baranowski.

Untersuchungen über die phosphatübertragenden Enzyme im Muskelextrakt ¹⁾).

Im Jahre 1935 zeigten wir (Ostern, Baranowski u. Reis. Bioch. Zeitschr. 279, 85, 1935), dass im dialysierten Kaninchenmuskelextrakt, welcher kein Kreatin enthält, aus Adenylsäure und Phosphoglycerinsäure Adenosinriphosphorsäure gebildet wird. Der Beweis dafür wurde auch präparativ geführt. (Ostern u. Baranowski. Bioch. Zeitschrift 281, 157, 1935).

Auf Grund der in der Literatur vorliegenden Untersuchungen (Lohmann u. Meyerhof. Bioch. Zeitschr. 273, 60, 1934, Meyerhof u. Kiessling. Bioch. Zeitschr. 276, 239, 1935) findet die Phosphatübertragung aus Phosphoglycerinsäure auf die Adenylsäure in folgenden Zwischenreaktionen statt:

- A. 3-Phosphoglycerinsäure $\xrightarrow{\quad}$ 2-Phosphoglycerinsäure
B. 2-Phosphoglycerinsäure $\xrightarrow{\quad}$ Phosphobrenztraubensäure
C. 2 Phosphobrenztraubensäure + Adenylsäure = 2 Brenztraubensäure + Adenosinriphosphorsäure.

Einen noch exakteren Beweis für diese Reaktionskette brachten die Untersuchungen mit radioaktiver Phosphoglycerinsäure, über die kürzlich berichtet wurde (Hevesy, Baranowski, Guthke, Ostern u. Parnas. Acta Biol. Exp. 12, 34, 1938).

In der vorliegenden Untersuchung befasste ich mich mit dem Problem, ob die Enzyme, welche die Phosphatreste der

¹⁾ Vorgetragen in der Sitzung der Polnischen Physiologischen Gesellschaft am 6.V.1938.

Phosphoglycerinsäure auf die Adenylsäure übertragen, aus dem Muskelextrakt isoliert, und in einer solchen Weise fraktioniert werden können, dass jede der drei obengenannten Reaktionen (A, B, C) für sich realisierbar wird. Das Enzym, welches in der Hefe die Phosphoglycerinsäure in Phosphobrenztraubensäure umsetzt, kann in zwei Einzelenzyme getrennt werden (A k a n o, *Bioch. Zeitschr.* 280, 100, 1935), von denen das eine („die Phosphoglyceromutase“) die Reaktion A, das zweite („die Enolase“) die Reaktion B in Gang bringt. Das Enzym, welches die Phosphatgruppen aus der Phosphobrenztraubensäure auf die Adenylsäure überträgt (eine Phosphomutase) ist bisher nicht genauer charakterisiert worden.

Als Ausgangsstoff für die Fraktionierung der gesuchten Enzyme dienten in meinen Untersuchungen dialysierte, wässrige Kaninchenmuskelextrakte (Muskel : Wasser = 1 : 1), aus welchen durch Fällung mit Aceton aktive Trockenpulver gewonnen wurden. Nahezu ebenso aktiv wie das Aceton-trockenpulver ist der erste (I) wässrige Auszug aus ihm, der zweite dagegen ist bereits sehr wenig aktiv, während die nächsten ganz inaktiv sind.

Nach Gewinnung des entsprechenden Enzymmaterials wurden die optimalen Bedingungen der Phosphatübertragung festgelegt. Wie früher gezeigt (O s t e r n u. B a r a n o w s k i, l. c.) ist das Magnesiumion ein Aktivator der Phosphatübertragung. In der vorliegenden Arbeit wurde festgestellt, dass zwischen der Mg^{++} -Konzentration und der Geschwindigkeit der Phosphatübertragung enge Beziehungen bestehen und zwar: bis zu einer Mg^{++} -Konzentration von 4 mg% wächst die Übertragungsgeschwindigkeit nahezu linear an, fällt dann ab und bei einer Mg^{++} -Konzentration von 100 mg% wird die Reaktion vollständig aufgehoben. Die pH-Aktivitätskurve steigt vom pH = 6 bis zu pH = 9 an, bei pH = 5.5 und 10 fällt sie scharf auf Null ab. Das pH-Optimum liegt bei pH = 9. Dementsprechend wurden die Synthesen der Adenosin-triphosphorsäure bei pH = 9 durchgeführt, was ausserdem den Vorteil bietet, dass bei dieser Wasserstoffionenkonzentration die Wirkung der in Muskel-extrakten vorhandenen Adenylsäuredeaminase gehemmt ist, so dass die Übertragung ohne Verluste an Adenylsäure verläuft.

In einem präparativen Ansatz erhielt ich z. b. bei Anwendung von 100 ml Extrakt [aus 5 g Acetonrockenpulver] bei pH 9, einer Mg^{++} -Konzentration von 4 mg%, $t = 37^{\circ}$ nach 10 Minuten langer Inkubation aus 2 g Muskeladenylsäure und 2.8 g phosphoglycerinsaurem Natrium 4 g adenosintriphosphorsaures Barium, welches nur durch Spuren von anorganischem Phosphat verunreinigt war. Die Ausbeute betrug 84% der Theorie.

Wenn man den ersten Extrakt (I) aus dem Acetonrockenpulver 5 Minuten bei 60° erwärmt, so verliert er die Fähigkeit der Phosphatübertragung aus der Phosphoglycerinsäure auf die Adenylsäure, behält dagegen die Fähigkeit zur Umlagerung der Phosphoglycerinsäure in Phosphobrenztraubensäure. Wenn man zu einem in dieser Weise inaktivierten Extrakt den zweiten wässerigen Extrakt zusetzt, welcher — wie oben erwähnt — inaktiv ist, so wird die Phosphatübertragung aus der Phosphoglycerinsäure auf die Adenylsäure restituiert und verläuft mit nahezu derselben Geschwindigkeit, wie im ursprünglichen (nicht erwärmten) Extrakt I. Der inaktivierte Extrakt kann auch durch den dritten wässerigen Auszug aus dem Acetonpulver ergänzt werden, wobei man allerdings eine etwas geringere Aktivität erhält. Besonders stark aktivierend wirken Carbonatextrakte (1% Natriumcarbonat) aus dreimal mit Wasser ausgewaschenen Acetonrockenpulvern. Im Laufe der Untersuchungen zeigte sich nämlich, dass die bei 60° thermostabilen Enzyme, welche die Reaktion A und B in Gang bringen (Enzym E_1 und E_2), sehr wasserlöslich sind und nahezu vollständig schon in den ersten wässerigen Extrakt übergehen. Nach dreimaligem Auswaschen ist das Acetonrockenpulver frei von ihnen. Derjenige Faktor, der bei 60° vernichtet wird, bleibt aber im ausgewaschenen Trockenpulver, und lässt sich besonders gut mit 1% Natriumcarbonat extrahieren. Dieser Faktor, den ich als Enzym E_3 bezeichnen will, wird bei 54° schon nach 3 Minuten inaktiviert, ist also von den beiden Enzymen, E_1 und E_2 verschieden.

Wenn man nun unter denselben Versuchsbedingungen die Phosphatübertragung aus der Phosphobrenztraubensäure realisieren will, so zeigt sich, dass sowohl die Lösung des Enzyms E_3 , als auch der erwärmte (60°) Extrakt (mit den Enzymen E_1 und E_2) inaktiv sind. Beide Lösungen geben aber

vereint eine starke Phosphatübertragung, sowohl aus der Phosphoglycerinsäure, als auch aus der Phosphobrenztraubensäure auf die Adenylsäure. Wenn man aber die Lösungen mit Fluorid (m/300) vergiftet, so wird die Phosphatübertragung aus der Phosphoglycerinsäure aufgehoben, nicht aber aus der Phosphobrenztraubensäure. Daraus folgt, dass auch für die Übertragung aus der Phosphobrenztraubensäure mindestens 2 Faktoren (mit Mg^{++} drei) notwendig sind, von denen der eine bei 54° (Enzym E_3), der zweite — wie weitere Untersuchungen zeigten — bei 80° schon nach 1 Minute inaktiviert wird. Beide Faktoren sind enzymatischer Natur. Sie können mit Ammoniumsulfat aus Lösungen gefällt werden, wodurch eine Anreicherung bis auf das 20-fache erzielt werden kann.

Die Fluoridvergiftung beweist, dass das unbekannte, bei 60° thermostabile Enzym nicht mit dem Enzym E_2 identisch ist. Versuche mit Hefeextrakten ergaben den Beweis, dass es auch vom Enzym E_1 verschieden ist. Wenn man nämlich 1 g Acetontrockenhefe mit 15 ml Wasser auszieht, so synthetisiert dieser Extrakt im Laufe von 10 Minuten (25°) keine Adenosintriphosphorsäure aus Phosphoglycerinsäure und Adenylsäure, setzt dagegen die Phosphoglycerinsäure in Phosphobrenztraubensäure um, enthält also die Enzyme E_1 und E_2 . Wenn man nun einen solchen Extrakt mit einem bei 60° inaktivierten Muskelextrakt (aus Acetontrockenpulver) vermischt, so erhält man ein System, welches eine nahezu quantitative Übertragung der Phosphoglycerinsäure auf die Adenylsäure bewirkt. Dieser Hefeextrakt enthält also die Enzyme E_1 , E_2 und E_3 , nicht aber das unbekannte Enzym E_4 , welches demnach mit dem Enzym E_1 nicht identisch sein kann.

Aus den mitgeteilten Resultaten geht hervor, dass in der Übertragung der Phosphatgruppen aus der Phosphobrenztraubensäure auf die Muskelenylsäure mindestens zwei Enzyme teilnehmen.

[Institut de Physiologie de l'Homme. Université Joseph Piłsudski].
Directeur: Prof. François Czubalski.

R. Natolski.

**L'influence de l'acide lactique et de ses sels sur la pression
artérielle ¹⁾.**

Je n'ai trouvé aucun travail dans la littérature scientifique concernant l'influence de l'acide lactique sur la pression sanguine. Leger et Pachon ('13) et, plus tard, Missiuro ('37) ont étudié l'influence du travail physique sur la pression du sang et ont aperçu que la pression baisse immédiatement après le travail et qu'un peu plus tard on observe une augmentation. Ces recherches ne nous disent pas bien entendu si c'est l'acide lactique qui influe sur la pression sanguine et dans quelle mesure. Les résultats de ces expériences n'ont à ce point de vue qu'une valeur indicatrice. J'ai résolu d'examiner cette question de près.

Pour exclure l'action de l'acidité j'ai employé pour mes expériences des sels de l'acide lactique c-à-d. des lactates de soude, de potasse et de chaux et j'ai eu soin de déterminer le pH du sang au début et à la fin de chaque expérience. La concentration des solutions employées était de 20%. Dans quelques expériences seulement je me suis servi des concentrations différentes pour vérifier si la concentration ne joue pas un rôle particulier. Les doses employées ont été de 0.05 à 0.6 gr par kg de poids d'animal. Toutes les expériences ont été effectuées sur les chiens.

La technique de l'expérience était suivante: on inscrivait la pression sanguine de la carotide. On introduisait les solu-

1) Présenté dans la séance du 28.IV.1938 de la Société Polonaise de Physiologie.

tions dans la veine fémorale. Les chiens étaient endormis au chloralose (0.1 gr par kg de poids).

Une partie d'expériences a été effectuée sans introduction de chloralose sur des chiens décérébrés. On a fait au total 63 expériences. On peut les diviser en deux séries: les expériences faites sur des chiens anesthésiés et celles effectuées sur des chiens décérébrés.

Chez des chiens anesthésiés avec le système nerveux intact l'ion lactique abaisse la pression sanguine. La grandeur de l'abaissement et sa durée dépend de la dose et de l'ion métallique lié à l'ion lactate. Pour la dose de 0.2 par kg de lactate sodique l'abaissement est en moyenne de 49.5 pour cent de la valeur initiale. Il faut remarquer que tous les chiens ne réagissent pas de la même façon, il y a des différences individuelles. On note par exemple chez un des chiens un abaissement de la pression de 32.7% après l'introduction de 0.2 gr de lactate de soude et chez un autre l'abaissement est de 60% après la même dose. Le lactate de soude ne change pas le pH du sang. L'introduction de 0.05 gr de l'acide lactique provoque une chute très prolongée de la pression sanguine de 69.5% et une acidification nette de l'organisme.

La dose mortelle dépend de l'ion métallique lié à l'acide lactique. Pour le lactate de soude elle est de 0.6 par kg de poids, pour le lactate de chaux 0.1 et pour le lactate de potasse elle n'est que de 0.05 ce qui peut être expliqué par l'action toxique de la potasse.

La mort survient à la suite de l'insuffisance cardiaque aigüe et de l'inhibition simultanée du centre vasomoteur. Le centre respiratoire semble être atteint lui aussi puisque les mouvements respiratoires deviennent rares et très profonds, les muscles respiratoires auxiliaires y prennent part. Le tableau classique de l'asphyxie n'a pas le temps de s'établir puisque l'animal meurt plus tôt à cause de l'atteinte du muscle cardiaque et du centre vasomoteur.

La section des nerfs pneumogastriques chez les chiens avec le système nerveux central conservé n'a pas d'influence sur le caractère de la réaction. Celle-ci devient seulement un peu moins

intense. L'abaissement moyen après l'introduction de 0.2 gr de lactate de soude par kg de poids est de 27.2 pour cent.

La section de la moelle épinière chez des chiens chloralosés ne change non plus le caractère de la réaction. À cause d'une basse pression artérielle préexistante, la chute de celle-ci n'est pas fort marquée et est égale à 17%.

Si on coupe les nerfs pneumogastriques aux chiens chloralosés à moelle épinière sectionnée, ils réagissent vis à vis de l'ion lactique par un accroissement de la pression artérielle. Après l'introduction de 0.2 de lactate de soude par kg de poids, le chien réagit par une augmentation de la pression de 15%, qui s'institue après une chute de courte durée.

Les chiens décérébrés présentent une réaction plus vive que les chiens anesthésiés. Souvent le caractère de cette réaction chez les chiens décérébrés diffère du tableau obtenu dans des conditions identiques chez les chiens anesthésiés. Les chiens décérébrés présentent une chute de la pression artérielle plus considérable de 80% de la valeur initiale. Cette chute dépend dans une large mesure de l'inhibition du muscle cardiaque à cause de l'influence des sels de l'acide lactique sur les centres du nerf vague.

Les chiens avec le système nerveux central complètement détruit (le cerveau, le bulbe, et la moelle épinière) réagissent envers l'ion lactique par un faible abaissement de pression. Cet abaissement est peu marqué puisque le système vasculaire est devenu complètement atone.

Les chiens décérébrés après la section des pneumogastriques réagissent vis à vis d'ion lactique par une montée de la pression sanguine de 30%. Après avoir intoxiqué l'animal par le Gynergène, qui paralyse le système sympathique, on n'obtient plus la montée, on note par contre un abaissement de la pression artérielle.

Les chiens à système nerveux central détruit et chez lesquels on a sectionné les pneumogastriques présentent après l'introduction de l'ion lactique une élévation de la pression modérée et durable.

Chez des chiens décérébrés on observe, après avoir intoxiqué préalablement les nerfs pneumogastriques par l'atropine,

une chute de la pression artérielle. Après l'introduction de l'ion lactique, elle est moins intense que celle avant l'intoxication des vagues. Après la section définitive des nerfs intoxiqués la réaction s'inverse et on obtient un accroissement de la pression artérielle de 48.4%.

Cette réversibilité des effets prouve que l'ion lactique agit simultanément sur différents systèmes, probablement sur le système ortho et para sympathique et, suivant la prédominance de l'un ou de l'autre, on obtient soit une montée soit une chute de la pression artérielle. Cette question ne peut être mise au point que par des recherches ultérieures.

Bibliographie.

Leger P. cit. de Pachon. 1913. — Missiuro W. 1937. Fizjologia pracy i ćwiczeń. Przegl. Fizjol. Ruchu 8 (107). — Pachon V. 1913. Congr. Inter. de l'Éduc. Phys. Paris.

[From Pharmacology and Toxicology Institute of the Academy of Veterinary Medicine in Lwów].

Adam Szwabowicz.

The Influence of the Concentration of Alcohol upon Temperature, Pulsrate and Respiration at Rabbits and Dogs¹⁾.

There is now quite exactly known the action of alcohol upon temperature, pulsation and respiration at men. However, the explication of the manner of alcohol's action is more difficult as it may also be a reflex action from the mouth, and the alterations of these functions may also appear in a secondary manner. Therefore the researches made at animals allow often better to perceive the mechanism of the action of alcohol.

The literature on this object, completed by Kochmann, is very large. Nearly all authors state in good agreement that alcohol given in average doses causes a slight decrease of temperature measured in rectum as well at men as at animals, and the narcotic doses cause a remarkable decrease of temperature amounting to 1—2 or more degrees. A slight increase of temperature was observed at dogs by Jakobi only, after an injection of 20, 40 and 60 per cent of alcohol. Duchek also observed in some cases a rising of temperature the alcohol being injected.

If it is the matter of the influence of alcohol upon the rate of respiration all authors approved conformably an exciting action of alcohol upon the process of breathing i. e. as well upon the capacity of respiration as the number of breaths.

In respect of the influence of alcohol upon pulsation and circulatory system of the blood, the slight doses may have an advantageous influence i. e. the activity of heart is amended and the pulsation is accelerated, but the substantial doses may

¹⁾ Presented before the Polish Physiological Society, Lwów, 6.V.1938.

exert a wrong influence. As the experiments have been done in various circumstances the results were not always the same.

I tried to prove in my experiments whether the quantity of alcohol in organism, measured by its concentration in blood, causes the alterations of the picture of temperature, respiration and pulsrate, and the way of introduction of alcohol exerts any influence upon these functions.

The dogs and rabbits have been used in my experiments. To ones and others I applied the alcohol in 33° water solution giving it in mouts, vessels and rectum. The dose of alcohol was given constantly the same according to the animals weight (= 0.72 c.cm. alcohol 33°). Besides the quantity of alcohol in blood I indicated at rabbits the temperature measured in rectum and the number of breaths per minute, at dogs, however, the quantity of alcohol in blood, the temperature measured in rectum and the number of breaths and pulsrate per minute.

The measurements of alcohol applied in my experiments have been made according to W i d m a r k's method (known by analysis of judiciary medicine), but this method has been modified by me in respect of measuring separately the suitably diluted water solution of potassium dichromate and separately concentrated sulphuric acid, instead of hard and inaccurate measurement of chrome mixture. Instead of using the vapour-bath of water I put the W i d m a r k's glasses into the electrical drying shed showing the temperature of 50—60°. As well as at dog as at rabbit the blood was received for indication of alcohol by pricking of the borden vessel of the ear. Totally I have made 17 experiments with rabbits and 14 with dogs.

Discussion.

1. *The Rabbit.*

The introduction of alcohol to the stomach by means of a sound (Fig. I) causes the decrease of temperature and diminishing of the number of breaths. It is difficult to denote in what degree this diminishing is dependent on the contents of alcohol in blood. It may be, however, stated that the highest degree of decrease of temperature corresponds to the greatest

quantity of alcohol in blood, because in more or less all cases the lowest temperature is corresponding to maximum of alcohol in blood. It is, however, difficult to state what is the reason of

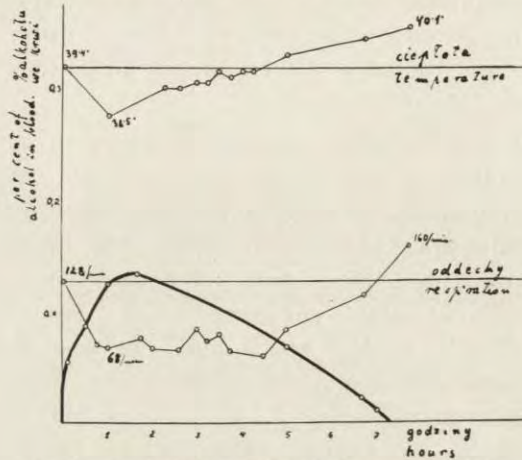


Fig. I. The introducing of alcohol per os at rabbit. The thick line marks the quantity of alcohol in blood. The upper thin line mark temperature and the low line the respiration. The horizontal lines marks the normal temperature and the normal respiration.

higher or lower decrease of temperature at the different individuals. It is no doubt that to do in these cases with a particular manner of reaction depending on the structure of each individual. For instance I will bring into comparison the maximal containing of alcohol in blood, the normal temperature, the lowest one and the difference or decrease of temperature:

Maximum of alcohol in blood	Normal temperature	Lowest temperature	Difference (decrease of temperature)
0.133%	39.4 ^o	38.5 ^o	0.9 ^o
0.162%	38.9 ^o	38.4 ^o	0.5 ^o
0.142%	39.5 ^o	38.0 ^o	1.5 ^o
0.213%	39.3 ^o	37.9 ^o	1.4 ^o

The decrease of temperature is passing after the application of alcohol. At first the temperature falls rapidly enough according to the increase of the concentration of alcohol in blood, and then it rises equally swiftly. It is to be noted a systematical increase of temperature and its enough swift return to the normal state when the level of alcohol is diminished to 0.120%. For the most part the temperature rises above the normal state

at later hours, and it takes place before a complete dismissal or burning of alcohol.

I observed a considerable decrease of the rate of breaths in all cases of introducing the alcohol to the stomach of rabbits by means of a sound *i. e.*:

from 260/min.	to 160/min.
132/min.	64/min.
128/min.	68/min.
82/min.	32/min.

Even in this case the fewest successiveness of breaths corresponds to the richest capacity of alcohol in blood, and on the contrary the return to the normal state corresponds to the time of complete disappearance of alcohol out of the organism.

The results of these experiments are discordant with those obtained by Blume who observed the increase of the number of breaths per unit of time. In my further experiments I introduced the same quantities of alcohol in the same solution as it has been applied by Blume. I observed the decrease of the number of breaths as well the alcohol being introduced to the vessels as it has been poured by a sound *per os* in quantities served by Blume. The results may be ascertained by the following statements:

Hour	Number of breaths per min. I Rabbit	Number of breaths per min. II Rabbit
13,20	140	160
14,00	128	140
14,30	120	128
15,00	132	136
15,30	128	132
16,15	132	132
16,45	20 c. cm. of 5% alcohol (in Ringer - solution) have been poured <i>per os</i> by a sound	
17,00	20 c. cm. of 5% alcohol (in Ringer - solution) have been introduced to the vessels	
17,15	110	110
17,30	102	114
17,45	100	120
18,00	106	116
18,15	108	118
18,30	108	120
18,45	104	106
19,00	104	96
19,15	102	102
19,30	100	88
19,45	108	96
20,00	100	96

In both cases we may observe a distinct decrease of the number of breaths.

It is sure that the indication of alcohol in blood shows its more rich concentration when given to the vessels, but this fact has no influence upon the stronger decrease of temperature.

Maximum of alcohol in blood	Normal temperature	Lowest temperature	Decrease of temperature
0.276%	38.8 ^o	37.4 ^o	1.4 ^o
0.297%	39.3 ^o	37.3 ^o	2.0 ^o
0.373%	38.9 ^o	38.4 ^o	0.5 ^o
0.318%	39.2 ^o	38.7 ^o	0.5 ^o
0.245%	38.9 ^o	38.4 ^o	0.5 ^o

The decrease of temperature lasts very shortly on this point for so swiftly as the temperature sinks, so rapidly it later rises being at last transformed into the state of fever remaining for a long time after the complete disappearance of alcohol out of the organism.

Normal temperature	Lowest temperature	Highest temperature
39.3 ^o	37.3 ^o	39.7 ^o
38.9 ^o	38.4 ^o	40.2 ^o
39.2 ^o	38.7 ^o	39.9 ^o
38.9 ^o	38.4 ^o	40.0 ^o

When alcohol is introduced to the vessels the decrease of temperature takes place in a period of time of 5 minutes to half an hour (Fig. II). A return to the normal state may be

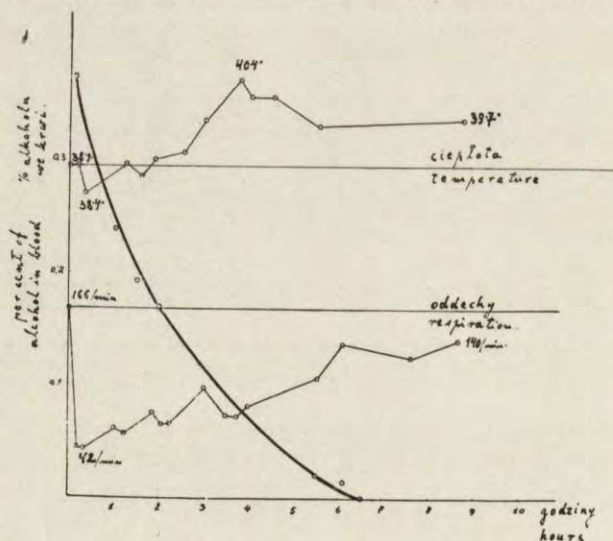


Fig. II.
The introducing of alcohol into vessels at rabbit.

observed during the following half an hour, and then succeeds an increase of temperature beyond the normal state and the said increase remains during all time of experiments.

The successiveness of breaths decreases in high degree: a strong decrease of the number of breaths may be already observed after 10 minutes, and then it stays for a certain time on the same level being submitted to the relatively slight fluctuations. At last, the alcohol being diminished to the level of about 0.120%, begins a gradual acceleration of respiration up to the moment of its complete disappearance.

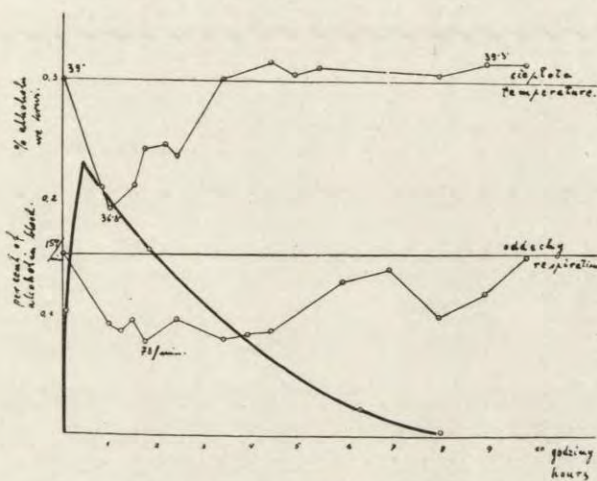


Fig. III. The introducing of alcohol per rectum at rabbit.

A very strong decrease of temperature may be observed when alcohol is given in rectum (Fig. III). The breaths are also decreased very distinctly.

Maximum of alcohol in blood	Normal temperature	Lowest temperature	Decrease of temperature
0.238%	38.8°	34.3°	4.5°
0.217%	39.2°	36.9°	2.3°
0.209%	39.0°	36.8°	2.2°

The breaths are decreasing from

200/min. to 54/min.
150/min. 66/min.
154/min. 78/min.

The returning of temperature and breaths to the normal state has place for the most part during the complete disappearance of alcohol out of the organism.

If we compare the decreases of the temperature, the above three ways being applied for introducing alcohol to the organism, we will observe that the most considerable decrease of temperature has place in case of giving alcohol per rectum. In comparison, however, with alcohol given per os, the maximal concentration of alcohol in blood is slightly greater when it is applied per rectum. May be it is in connection with a more rapid resorption of alcohol out of the large intestine because its terminal parts (rectum) do not lead the blood through the vena portae to the liver which forms a bar and a place of retaining of many poisonous and alimentary substances.

When alcohol is given per os we may observe its average maximum in blood amounting to 0.162% and the decrease of temperature to 1.1°, when it is given per rectum the average maximum amounts to 0.221% and the decrease of temperature to 3.0°, but when it is given to the vessels its maximum in blood reaches 0.315% while the decrease of temperature does not exceed on an average 1.0° only.

The divergence between the high level of alcohol and the low decrease of temperature may be explained by a shocking influence of alcohol being introduced to the vessels. May be, the alcohol directly given into the circulatory system causes the disturbances in the system of colloids, e. g. it precipitates or in other way destroys the albumin. Such an albumin keeps then appearance of a strange one introduced by a parentetical manner.

II. The Dog.

We may observe the similar phenomena as at rabbits, viz. the decrease of temperature being further transformed into its increase. The only difference is in far longer burning of alcohol in dogs than in rabbits. The same quantity of alcohol is dismissed by dogs on an average within 13 hours and by rabbits in a period of time of more or less 8 hours. Even in this case it is difficult to ascertain the moment causing a stronger or

slighter decrease of temperature. We have probably to do with the dependence caused by the rapidity of absorption: the more rapidly alcohol is absorbed the more remarkable is the decrease of temperature. That seems to be approved by the below comparative table:

Maximum of alcohol in blood	Decrease of temperature
after 30 minutes	1.5 ^o
after 1 hour	1.4 ^o
after 5 hours	0.8 ^o

The return of the temperature to the normal level takes place after 8 hours i. e. in the moment when the quantity of alcohol in blood is relatively considerable enough. In this case may be also noted the decrease of the temperature within further hours, however, before the complete disappearance of alcohol out of the blood. The number of breaths diminishes but not in so high degree as at rabbits, the decrease, however, of the rate of respiration is here remarkable. The pulsation is accelerated immediately after the introducing of alcohol and it is maintained above the normal state during all time, but with remarkable hesitations.

When alcohol is given to the vessels we have at dogs a different picture of temperature than at rabbits. In the first moment (about $\frac{1}{2}$ hour) the temperature sinks, further it rises equally swiftly, and finally surpasses the normal state quite remarkably. Further it sinks again below the normal state and scarcely after about 9 hours from the time of applying the alcohol it begins to rise rapidly and transforms into the fever. The first increase of the temperature may be explained in the following manner: in the first moment after the introducing of alcohol into the blood the dog is lying motionless. After some time (about 20—30 minutes) he awakes and endures some strong shudders which, as I believe, are just the cause of this increase of temperature. Consequently the image of temperature is different at dogs in comparison with rabbits. It is sure that the temperature rises but this state is transient, and it rises again owing to the work of muscles participating in movements caused by shudders.

The number of breaths fall in this case also, but it is subdued during the experiment to enough remarkable hesitations

in conformity with the mobility or tranquility of dogs. Only in one case I was able to state that alcohol acts unfavourably on the respiration: after giving alcohol to the vessels the dog ceased to breathe during 7 minutes, and then he returned to life after the application of artificial breathing.

The introducing of alcohol per rectum has a similar influence upon temperature, respiration and pulsation as on giving per os.

Conclusions.

1°. When alcohol is given per os and per rectum in a quantity of 0.25 c. c. 95° per 100 g of animal's weight, in a water solution of 33° it may be at first observed the decrease of temperature measured in rectum at rabbits and dogs, and then it rises often above the normal state before the complete disappearance of alcohol out of the organism. The number of breaths decreases. The acceleration of pulsation appears at dogs. The returning to the normal rate of breaths and pulsation takes place in the moment of complete disappearance of alcohol out of the blood.

2°. The introducing of the same quantity of alcohol to the vessels causes at the rabbits a long increase of temperature above the normal state, after its slight decrease, and on the other hand a transient increase of temperature at the dogs. The number of breaths fall, and the pulsation is accelerated.

3°. The decrease of temperature and respiration and the acceleration of pulsation are not dependent only on the concentration of alcohol in blood but probably on the rapidity of absorption of alcohol too.

4°. The time of combusting of alcohol i. e. its disappearance out of the blood lasts about 8 hours at rabbits, and it lasts about 13 hours at dogs.

References.

- Kochmann M.: *Alcohol. Handbuch der experimentellen Pharmakologie*. Berlin 1923. — Widmark E. M. P.: *Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlich-medizinischen Alkoholbestimmung*. Berlin—Wien 1932. — Blume W.: *Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie*. 133 (202), 1928.

[Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Universität
Kraków].

J. Fegler, H. Kowarzyk und Z. Lelusz-Lachowicz.

**Über den Azetylcholin-Gehalt des zentralen Nervensystems
bei den Erregungszuständen nach Strychnin- und Tetanus-
toxin-Einführung ¹⁾.**

Die Annahme eines humoralen Reizvermittlers im zentralen Nervensystem (Z. N. S.) hat bis heute keine unanfechtbare experimentelle Stütze gefunden. Anschliessend an die diesbezüglichen, umstrittenen Fragestellungen haben wir den Azetylcholin (ACh.) - Gehalt des Z. N. S. bei ausgesprochenen Erregungszuständen, nach Strychnin- und Tetanustoxin - Einführung, untersucht. Die Untersuchungen waren bereits im Gange, als O. Löwi (1) kurz mitteilte, dass bei Strychnin-vergifteten Sommerfröschen eine Erhöhung des ACh. - Gehaltes im Z. N. S. stattfindet.

Unsere Strychninversuche wurden an Kaninchen ausgeführt. Nach intravenöser Strychnineinführung wurden die Tiere im Tetanusanfall dekapitiert. Der Hirnstamm und das Rückenmark wurden gemeinsam nach dem Verfahren von *Stedman* und *Stedman* (2) mit Alkohol oder von *Löwi* mit salzsauren Alkohol extrahiert. Die Extrakte wurden am Blutegelmuskel testiert und mit denjenigen von gleichzeitig getöteten Kontrolltieren verglichen.

Die Versuche ergaben eine Herabsetzung des ACh.-Gehaltes bei Strychninkaninchen. Die Herabsetzung betrug in den vielfach wiederholten Versuchen 30—60% der Kontrollwerte.

Weiterhin ergab es sich, dass eine tiefe Dialnarkose nicht nur die Strychninkrämpfe aufhebt, sondern gleichzeitig auch die

¹⁾ Vorgestellt in der Sitzung der Polnischen Physiologischen Gesellschaft am 26.IV.1938.

Herabsetzung des ACh.-Gehaltes im Z. N. S. verhindert. Der bekannte pharmakologische Antagonismus zwischen dem Strychnin und den Barbitursäurederivaten äussert sich also nicht nur in der Aufhebung der Strychninkrämpfe, sondern auch in der Aufhebung des Strychnineinflusses auf den ACh.-Gehalt des Z. N. S. Dies erscheint uns ein neuer Hinweis zu sein, dass im zentralen Nervensystem die Erregungszustände von entsprechenden Azetylcholin-Umsätzen begleitet werden.

Kurare - Gift hebt den Strychnineinfluss auf den ACh.-Gehalt des Z. N. S. nicht auf, obwohl es die Strychninkrämpfe verhindert. Das stimmt überein mit der bereits bekannten Tatsache, dass der Kurare - Strychnin - Antagonismus, im Gegensatz zu dem „echten“ Antagonismus zwischen Strychnin- und Barbitursäurederivaten, nur scheinbar ist und auf Nebenumstände zurückgeführt werden muss.

Ein anderes Ergebniss als die Strychninversuche lieferten die Untersuchungen des Z. N. S. bei Kaninchen, nach intravenöser Tetanustoxin-Einführung. Derartig vorbehandelte Tiere zeigen eine Erhöhung des ACh.-Gehaltes. Besonders ausgesprochen war diese Erhöhung bei Tieren, die vor dem typischen Tetanus-Anfall getötet wurden. Bei diesen Tieren waren bereits zentrale Störungen, nämlich Unruhe, leichte klonische Krampfanfälle, eine Steifheit des Nackens und der Extremitäten, vorhanden. Weitere Untersuchungen sind im Gange. Naheliegend ist die Vermutung, dass der Unterschied in der Wirkungsweise des Strychnins und des Tetanustoxins auf den ACh.-Gehalt des Z. N. S. darauf beruht, dass die Strychninerregung des Z. N. S. akut einsetzt, während das Toxin langsam einschleicht und erst nach einer längeren Latenzperiode den chronisch sich vertiefenden Erregungszustand auslöst.

Die Untersuchungen insbesondere von O. Löwi sowie von J. Gautrelet und Mitarbeiter (3) ergaben mit einiger Wahrscheinlichkeit, dass das ACh. im Nervengewebe in der Form einer Verbindung mit Lipoiden oder Eiweissstoffen magaziniert wird. Dieses ACh.-Magazin, das ACh.-Komplex wie Gautrelet es nennt, sollte bei Erregungszuständen zerfallen und freies ACh. liefern. Unsere Untersuchungen stützen diese Auffassung. Bei einem akut einsetzenden Erregungszustand, wie

es der Fall bei der Strychninerregung ist, wird das vorgenannte Komplex wahrscheinlich rasch zersetzt. Das dabei freigesetzte ACh. wird abgebaut oder entfernt; wir finden deshalb bei der Untersuchung des Z. N. S. mittels der Extraktionsmethoden eine Herabsetzung des ACh.-Gehaltes. Die Extraktionsmethoden nach *Stedman*, oder nach *Löwi* erfassen nämlich nicht nur das freie ACh., insofern es im Z. N. S. sich vorfindet, sondern gleichzeitig das im Magazin deponierte, gebundene ACh. Bei der Strychninerregung ist eben dieses magazinierte ACh. vermindert.

Die Dialnarkose scheint dem Zerfall des ACh.-Komplexes bei der Strychninerregung entgegenzuwirken. Man könnte an eine Stabilisierung des Komplexes denken, die gleichzeitig eine Vorbedingung des pharmakodynamischen Antagonismus zwischen Dial und Strychnin wäre. Kurare hat keine stabilisierende Wirkung auf das Komplex. Es verhindert zwar die Strychninkrämpfe doch ist dieser Antagonismus nur scheinbar, und beruht darauf, dass die beiden Gifte verschiedene Erfolgsstellen angreifen. Wir möchten jedoch die Möglichkeit einer zentralen Kurarewirkung nicht in Abrede stellen und wir führen entsprechende Untersuchungen aus.

Die Ergebnisse der Toxinversuche lassen an die Möglichkeit denken, dass das ACh.-Komplex im Nervengewebe durch einen Regenerationsvorgang neu gebildet werden kann; in bestimmten Fällen kann der Regenerationsvorgang den Zerfall des ACh.-Komplexes bei Erregungszuständen hyperkompensieren. Weitere Untersuchungen sind im Gange.

Literatur.

O. *Löwi*: Naturwiss. 25. 461, 526, (1937). — E. *Stedman* und E. *Stedman*: Biochemic. J. 31. 817, (1937). — E. *Corteggiani*, J. *Gautrelet*, A. *Kaswin* u. C. *Mentzer*. C. R. Soc. Biol. Paris, 123. 667, (1936). — E. *Corteggiani*: ibidem 124. 1197; 125. 944, 949, (1937). — E. *Corteggiani*, A. *Carayon-Gentil*, J. *Gautrelet* u. A. *Kaswin*: ibidem 125. 945, (1937).

[Pharmakologisches Institut der Jagiellonischen Universität, Kraków].

J. V. Supniewski und M. Serafin-Gajewska.

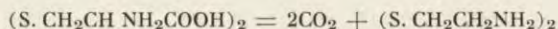
**Über die pharmakologischen Eigenschaften des Cysteamins
und des Merkaptothiazolins¹).**

In den tierischen Geweben befinden sich spezifische Fermente, welche von Aminosäuren das Kohlendioxyd abspalten und diese in biologische Amine verwandeln. Die auf diese Weise entstandenen Amine, im Gegensatz zu völlig unwirksamen Aminosäuren, besitzen eine stark pharmakodynamische Wirkung. Da sie in normalen Geweben in verhältnissmässig kleinen Mengen vorkommen, manifestieren sie ihre Wirkung nicht, bei verschiedenen pathologischen Zuständen können sie jedoch in erheblich grossen Mengen produziert werden und gewisse Vergiftungserscheinungen hervorrufen. Diese Amine sind an Pathogenese vieler Erkrankungen schuldig.

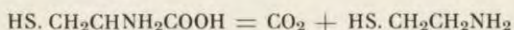
Bei der Beschädigung der Gewebe wird aus dem völlig ungiftigen Histidin das höchst toxische Histamin gebildet, welches dann schwere Schockerscheinungen bewirkt. Histamin wird während des anaphylaktischen und ebenso während des traumatischen Schocks gebildet, es entsteht im Organismus infolge der Brand- und Erfrierungsschaden, infolge der Einwirkung der Schlangen- und Insektengifte, es wird endlich unter dem Einfluss verschiedener chemischen Gifte, wie z. B. Arsenobenzolderivate, gebildet.

Aus dem im Körper vorhandenen Tyrosin kann im Gewebe ein sympathisches Gift gebildet werden, das Tyramin, das Symptome der Gefässhypertension verursachen kann. Im Blut und auch im Harn der an Hypertension leidenden Patienten wurde oft das Tyramin in erheblich grossen Mengen gefunden.

Bei Dekarboxylierung des schwefelhaltigen Cystins entsteht das Cystamin nach der Formel:



Das Cystein geht durch Dekarboxylierung in Cysteamin über nach der Formel:



Cystamin und ebenso auch Cysteamin wurden in den tierischen Geweben noch nicht nachgewiesen, werden jedoch wahrscheinlich, dem Histamin und Tyramin analog, im Organismus gebildet. Cystamin und Cysteamin scheinen Körper zu sein, welche bei der Taurinbildung aus dem Cystin und Cystein als intermediäre Stoffwechselprodukte entstehen. Taurin wird in Verbindung mit Gallensäuren mit der Galle aus dem Organismus ausgeschieden (L. Blum '09).

Cystamin und Cysteamin sind heutzutage vom biologischen und auch vom pharmakodynamischen Standpunkte aus sehr wenig bekannt. Nach Ackermann und Heise ruft Cystamin eine Blutdrucksenkung hervor. Robbers, welcher den erwähnten Körper in Form eines wasserlöslichen Hydrochlorids näher untersuchte behauptet, dass die von dem Cystamin hervorgerufene Blutdrucksenkung durch die Erweiterung der Kapillaren und Arteriolen verursacht wird. Durch diese gefässerweiternde Wirkung des Cystamins sollen nach Robbers am stärksten die Kapillaren und Arteriolen der Haut, der Muskel und des Herzens angegriffen werden. Der Herzmuskel wird von dieser Substanz nicht beschädigt, im Gegenteil, das Cystamin ruft eine Vergrößerung des Minutenvolumens des Herzens hervor. Cystamin hat weder auf das Atmungszentrum, noch auf die glattmuskeligen Organe einen stärkeren Einfluss, es wirkt auch weder auf die Nieren, noch auf die Magendrüsen ein. Diese Substanz ist dem Blutzucker gegenüber wirkungslos. In grossen Gaben verabreicht bewirkt sie bei Tieren klonische Krämpfe. Broglie und Heinsen ('38), welche das Cystamin Menschen verabreichten, beobachteten, im Gegensatz zu Robbers, nur eine Erhöhung des Blutdrucks und eine Verminderung des Blutzuckergehaltes. Cystamin ist also als ein den Blutdruck herabsetzendes Mittel, therapeutisch ganz wertlos.

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei Körper untersucht: I Cysteaminhydrochlorid und II 4-Merkaptothiazolin.

Synthese.

I. Cysteaminhydrochlorid, $\text{HS}\cdot\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2\text{HCl}$ wurde nach Gabriel ('89) als ein farbloses, kristallinisches, leicht im Wasser lösliches Salz, vom S. P. 72° synthetisiert.

II. Merkaptothiazolin, $\begin{array}{l} \text{CH}_2\text{—S} \\ | \\ \text{CH}_2\text{—N} \end{array} \begin{array}{l} \diagdown \\ \diagup \end{array} \text{CSH}$ wurde ebenso nach

Gabriel synthetisiert ('89). Bei der Erwärmung des Betabromaethylaminohydrobromids mit dem Kohlendisulfid und mit alkoholischer Natronlauge erhielten wir ein farbloses, kristallinisches, im Wasser unlösliches Salz, vom S. P. 107° . Mit Natronlauge (1 Mol) gibt das Merkaptothiazolin ein wasserlösliches Natriumsalz, welches auch bei unseren Versuchen in Anwendung kam. Das Betabromaethylaminohydrobromid erhielten wir durch das Erwärmen in einem zugeschmolzenen Glasrohr, bei 130° eine Stunde lang, des Handelkolamins mit einer 15-facher Menge des konzentrierten wässrigen Bromwasserstoffs.

Farmakologische Analyse.

Toxizität für weisse Mäuse.

Weissen Mäusen von durchschnittlich 20 g Gewicht wurden beide Körper in verschieden grossen Dosen subkutan injiziert.

Cysteaminhydrochlorid.

Nach Injektion von 0.6 bis 0.7 g/kg beobachtet man eine kurzdauernde motorische Erregung, die jedoch in wenigen Minuten in eine motorische Depression und eine Betäubung übergeht. Es tritt dabei eine Atmungsverlangsamung und Zyanose ein. Nach 4—5 Stunden werden die Tiere wieder normal. Dosis von 0.8 g/kg übt dieselbe Wirkung aus mit dem Unterschiede, dass die früher erwähnte Vergiftungserscheinungen eine längere Zeit anhalten. Dosis von 0.9 g/kg endlich hebt die Spontanbewegungen der Tiere völlig auf und ruft eine Somnolenz und eine Atmungsinsuffizienz hervor, um nach 18—24 Stunden den Tod infolge einer Atmungslähmung herbeizuführen. Tödliche Dosis Cysteaminhydrochlorids beträgt also 0.9 g/kg, es ist also bei subkutaner Injektion zweimal weniger toxisch für weisse Mäuse,

als Cystaminhydrochlorid, welches nach *Robbers* schon in einer Dosis von 0.45 g/kg tödlich wirkt.

Merkaptothiazolin.

Eine subkutane Injektion von 0.3 g/kg Merkaptothiazolins bewirkt eine Verlangsamung der Atmungsbewegungen, eine allgemeine Schläfrigkeit und eine motorische Insuffizienz. Nach einer Dosis von 0.4 g/kg den eben beschriebenen Erscheinungen folgen Symptome einer schweren Depression des Zentralnervensystems. Die Atmungsbewegungen sind langsam und mühevoll, es tritt eine starke Zyanose ein. Dieser Zustand wird von Zeit zu Zeit durch tonisch-klonische Krämpfe unterbrochen. Die Tiere gehen gewöhnlich in 12 Stunden nach der Injektion zugrunde. Gaben von 0.5—0.6 und 0.7 g/kg üben eine ähnliche Wirkung aus mit dem Unterschiede, dass die Vergiftungsercheinungen schwerer sind und der Tod schon nach 3 Stunden eintritt. Letale Dosis des 4-Merkaptothiazolins für weiße Maus beträgt 0.4 g/kg. Merkaptothiazolin, das ungefähr zweimal toxischer, als das Cysteamin ist, erregt zuerst und lähmt nachher das zentrale Nervensystem, also ein dem Cystamin ähnliches Gift ist.

Wirkung auf die Atmung.

Zu den Versuchen wurden die mit Urethan narkotisierten Katzen verwendet, bei welchen wir die Atmungsbewegungen aus der Trachealkanüle registrierten.

Intravenöse Injektion von 0.01 g/kg Cysteaminhydrochlorids ruft eine Beschleunigung und Vertiefung der Atmung, die einige Minuten (bis 4 Min.) anhält (Fig. 1).

Dieselbe Dosis des Merkaptothiazolins übt dieselbe, jedoch etwas kürzer dauernde Wirkung aus. Dosis von 0.05 k/kg dieses Präparats regt stärker, aber ebenso kurzdauernd das Atmungszentrum der Katze an (Fig. 1).

Beide untersuchten Körper wirken also auf das Atmungszentrum fast ebenso stark erregend.

Wirkung auf den Kreislauf.

Die Versuche wurden an mit Urethan narkotisierten Katzen und Kaninchen ausgeführt. Es wurde der Blutdruck mit dem *Ludwigschen* Quecksilbermanometer, das Volumen des Dün-

darms mit Brodieschem Onkometer, das der vorderen Extremität mit dem Wasserplethysmograph und endlich das Volumen der Herzkammer mit dem Hendersonschen Kardio-

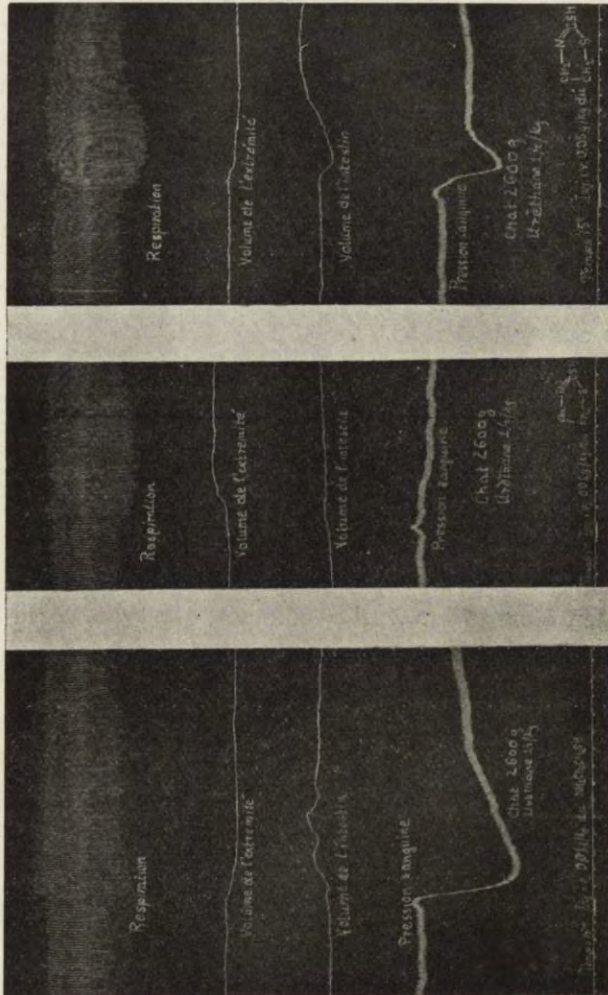


Fig. 1.

meter registriert. Es wurden auch Perfusionsversuche, und zwar Perfusion des isolierten Kaninchenherzens nach Langendorff, die des isolierten Froschherzens nach Straub, Durchspülung der Froschgefäße nach Trendelenburg und en-

dlich Durchspülung der Darm- und Extremitätengefäße des Kaninchens nach Dixon-Brodie ausgeführt.

Cysteaminhydrochlorid.

Injektion von 0.01 g/kg bewirkt eine rapide, ziemlich grosse, bis 80—100 mm Hg betragende Blutdrucksenkung. Der Blutdruck, der stärker bei Katze, als beim Kaninchen herabgesetzt wird, kehrt langsam zur Norm zurück. Gleichzeitig mit der Blutdrucksenkung beobachtet man eine Vergrösserung des Dünndarmvolumens und eine mässige Verkleinerung des Extremitätenvolumens (Fig. 1). Auf das Herz übt diese Dosis des Cysteamins eine sehr schwache Wirkung aus. Die Kardiometerkurve zeigt nur sehr unbedeutende, dem Blutdruck parallel verlaufende Veränderungen des Herzvolumens.

Cysteaminhydrochlorid bewirkt also eine Blutdrucksenkung, die hauptsächlich durch eine Erweiterung der Darmgefäße bedingt wird.



Fig 2.

Auf das isolierte Froschherz übt das Cysteamin in Konzentration von 1:100000 bis 1:5000 keine Wirkung aus, erst eine Konzentration von 1:1000 bewirkt eine Depression des Herzens, die sich durch eine Verkleinerung der systolischen Hubhöhen manifestiert. In Konzentration von 1:100 tritt eine Hemmung der Herztätigkeit ein. Es wurden dabei keine Rhythmusveränderungen beobachtet. In Gaben von 0.0005 g in die Aortakanüle eingespritzt, bewirkt das Cysteamin eine Anregung des isolierten Kaninchenherzens, wobei es sowohl die Systole, als auch die Diastole vergrössert und die Koronargefäße erweitert (Fig 2).

Die Gefässdurchströmungsversuche weisen nach, dass das Cysteamin in Konzentration von 1:1000 die Froschgefässe erweitert. Die Darmgefässe des Kaninchens werden durch eine Dosis von 0.01 Cysteamins erweitert, während die Extremitätengefässe unter dem Einfluss derselben Dosis verengt werden.

Das Cysteamin beeinflusst also den Kreislauf ebenso wie das Cystamin. Es ruft eine durch Vasodilatation verursachte Blutdrucksenkung hervor, übt eine schwach erregende Wirkung auf das Herz aus.

Merkaptothiazolin.

Intravenöse Injektion von 0.01/kg Merkaptothiazolins bewirkt zuerst eine unbedeutende Erhöhung des Blutdrucks, welche dann einer kurzanhaltenden Senkung desselben Platz macht. Während der Blutdrucksenkungsperiode tritt eine Vergrösserung des Dünndarm- und Beinvolumens auf. Die Kardiometerkurve wird durch diese Dosis ubeeinflusst. Dosis von 0.05/kg ruft eine, einige Sekunden anhaltende Blutdrucksteigerung, welcher dann eine rapide, ziemlich grosse (80—90 mm Hg) Blutdrucksenkung folgt. Nachdem der Blutdruck nach einigen Minuten zur Norm zurückgegangen ist, tritt oft eine nachfolgende, bis 200 mm Hg betragende und bis 2 Minuten anhaltende Erhöhung desselben ein (Fig. 1). Diese Dosis bewirkt auch eine Verminderung und dann eine langanhaltende Vergrösserung des Darmvolumens (Fig. 1). Diesen Blutdruckschwankungen parallel verlaufen die Veränderungen des Herzvolumens, wobei die Herzsystemen durch diese Dosis mässig vergrössert werden.

Das Merkaptothiazolin ruft eine Depression des isolierten Kaninchenherzens hervor. In Dosen von 0.0005 und 0.001 in die Aortalkanüle injiziert bewirkt es eine Verminderung der systolischen Herzbewegungen und eine Verengerung der Koronargefässe, ohne den Rhythmus der Herztätigkeit zu beeinflussen. Das isolierte Froschherz ist der Wirkung des Merkaptothiazolins entgegen mehr widerstandsfähig, da es von Konzentrationen bis 1:500 gar unbeeinflusst bleibt. Konzentration von 1:1000 verursacht nur eine unbedeutende Verkleinerung der Systole. Konzentration von 1:500 bewirkt neben der Verkleinerung der Systole auch eine Verminderung der Diastole des Herzens, um endlich einen maximal systolischen Herzstillstand hervorzurufen

(Fig. 3). Die Herzwirkung des untersuchten Körpers ist also ähnlich der toxischen Phase der Digitaliswirkung. Ebenso wie an Kaninchenherzen beobachtet man an Froschherzen keine Veränderungen der Herzfrequenz. Mehrmalige Durchspülung des Herzens mit Ringerlösung bewirkt das Zurückkehren der Herzaktivität.

Durchströmungsversuche wiesen nach, dass das Merkptothiazolin in Konzentrationen bis 1:10,000 keine Wirkung auf die Gefäße des Trendelenburgschen Froschpräparats ausübt. Konzentration von 1:1000 ruft eine Verengung der



Fig 3.

Froschgefäße hervor, indem sie den Ausfluss aus der Bauchvene um 50% vermindert. In Dosen von 0.005 und 0.010 in die afferente Kanüle des Kaninchenpräparats eingespritzt, bewirkt die untersuchte Substanz eine Verengung der Gefäße der hinteren Gliedmassen. In denselben Dosen in die Einflusskanüle des Kaninchendarmpräparats injiziert, übt sie keine Wirkung aus. Die Darmgefäße werden erst durch eine Dosis von 0.050 beeinflusst, und zwar verengt.

Das Merkptothiazolin, ähnlich wie das Cysteamin, ruft eine durch Vasodilatation der Eingeweide verursachte Blutdrucksenkung hervor. Im Gegensatz zum Cysteamin wirkt es stark toxisch auf die isolierten Herzen ein. Es bewirkt einen maximal systolischen Stillstand des Froschherzens und eine Verkleine-

rung der systolischen Bewegungen des isolierten Kaninchenherzens.

Wirkung auf den Blutzucker und auf die Körpertemperatur.

Die Versuche wurden an Kaninchen ausgeführt, denen wir die untersuchten Substanzen subkutan injizierten. Der Blutzucker wurde nach Hagedorn-Jensen bestimmt, die Temperatur wurde im Rektum gemessen.

Cysteaminhydrochlorid.

Zeit in Stunden	Kaninchen 1960 g		Kaninchen 1900 g	
	Blutzucker in mg%	Temperatur in °C	Blutzucker in mg%	Temperatur in °C
Norm	136	38.4	144	37.9
Subkutane Injektion von 0.01 g/kg Cysteaminhydrochlorids			Subkutane Injektion von 0.001 g/kg Cysteaminhydrochlorids	
½	116	38.5	100	38.0
1	78	39.0	88	38.0
2	120	38.6	88	38.5
3	119	38.7	98	38.0
5	118	39.3	120	38.2

Cysteamin also, dem Cystamin ähnlich, setzt den Blutzucker-gehalt herab, übt jedoch keinen ausdrücklichen Einfluss auf die Körpertemperatur aus.

Merkaptothiazolin.

Zeit in Stunden	Kaninchen 1850 g		Kaninchen 1920 g	
	Blutzucker in mg%	Temperatur in °C	Blutzucker in mg%	Temperatur in °C
Norm	140	37.4	129	37.1
Subkutane Injektion von 0.025 g/kg Merkaptothiazolins			Subkutane Injektion von 0.01 g/kg Merkaptothiazolins	
½	175	38.2	172	37.2
1	151	37.5	172	37.2
2	136	37.8	168	37.5
3	142	37.3	170	37.5

Das Merkaptothiazolin, im Gegenteil zum Cysteamin, ruft eine Steigerung der Blutzuckermenge hervor; es übt, ähnlich wie Cysteamin, keine Wirkung auf die Körperwärme aus.

Wirkung auf Harn- und Gallenausscheidung.

An mit Urethan narkotisierten Kaninchen wurde die Gallensekretion nach der Methode von Supniewski-Hano, und

der Urinausfluss aus der Harnblasekanüle mittels einer elektromagnetischen Einrichtung registriert (Tropfenzähler).

Cysteaminhydrochlorid in einer Dosis von 0.01 g/kg intravenös injiziert, vermindert unbedeutend die Gallenabsonderung, ohne jedoch die Harnausscheidung zu beeinflussen.

Merkaptothiazolin in Dosen von 0.01 und 0.05 g/kg wirkt ebensowenig auf die Harnausscheidung ein, verursacht jedoch eine kurzdauernde, aber ausgesprochenen starke (bis 50% der Initialmenge) Verminderung der Gallenausscheidung, die unmittelbar nach der Injektion auftritt und rasch zur Norm zurückgeht.

Wirkung auf die glattmuskuligen Organe.

Die Versuche über die Wirkung auf die Bronchien „in situ“ wurden an dekapitierten Katzen, die über den Einfluss auf die Bewegungen der Harnblase und auf die Peristaltik des Dün- und Dickdarms an dekapitierten Katzen und an mit Chloralose narkotisierten Kaninchen ausgeführt. Zur Bronchienuntersuchung wurde die Methode von Jackson, zur Untersuchung der Harnblase, des Dün- und Dickdarms manometrische Methode angewandt.

Es wurde auch der Einfluss auf die isolierten Organe und zwar auf die Rattengebärmutter, auf den Kaninchendünndarm und auf den Froschoesophagus untersucht.

Cysteamin.

Die intravenöse Einführung von 0.01 g/kg Cysteaminhydrochlorids verursacht eine unbedeutende Erregung der Harnblasebewegungen, übt jedoch keinen Einfluss auf die Bronchien der Katze aus. An Kaninchen bewirkt diese Dosis eine stark tonische Kontraktion des Dünndarms und schwache Dickdarmkontraktionen, oft auch eine mässige Zusammenziehung der Harnblase. Diese Wirkung tritt gerade unmittelbar nach der Injektion des Präparats auf und geht nach einigen Sekunden vorüber.

Auf den isolierten Kaninchendünndarm übt das Cysteamin in kleineren Konzentrationen eine tonisierende Wirkung aus. In Konzentrationen von 1:500,000 bis 1:25,000 beobachtet man eine mässige Vergrösserung der peristaltischen Darmbewegun-

gen und eine Erhöhung des Tonus. Stärkere Konzentrationen, also Lösungen von 1:10,000 und 1:5000 verlangsamen die Darmperistaltik, um endlich in einer Lösung von 1:1000 diese völlig aufzuheben und den Darmtonus zu erniedrigen. In grösseren Konzentrationen bewirkt also Cysteamin eine Depression des isolierten Kaninchendünndarms.

Der isolierte Froschoesophagus wird durch kleinere Cysteaminkonzentrationen unbeeinflusst. Grosse Konzentrationen dieses Körpers, also solche von 1:2500 bewirken eine Depression dieses Organes, indem sie den Tonus herabsetzen und die Amplituden der peristaltischen Bewegungen verkleinern.

Auf die isolierte Rattengebärmutter übt das Cysteaminhydrochlorid eine stark depressive Wirkung aus. In Verdünnungen von 1:500,000 bis 1:5000 beobachtet man eine immer stärkere Verkleinerung und Verlangsamung der Uteruskontraktionen und eine Erniedrigung des Uterustonos.

Merkaptothiazolin.

Merkaptothiazolin in Dosen von 0.02 und 0.05 g/kg intravenös eingespritzt, erregt unbedeutend die Harnblasenbewegungen der Katze. Auf die Bronchien wirkt es in diesen Dosen nicht ein. Dieselben Dosen den Kaninchen injiziert, bewirken eine stark tonische Kontraktur des Dünndarms, eine ziemlich starke Kontraktion des Dickdarms und eine mässige Zusammenziehung der Harnblase. Diese Wirkung geht im Laufe von 2 Minuten vorüber.

Der isolierte Froschoesophagus wird durch Konzentrationen von 1:100,000 bis 1:5000 unbeeinflusst. Konzentration von 1:2500 bewirkt eine tonische Kontraktion der Oesophagusmuskulatur, welche durch Atropinzugabe nicht aufzuheben sind und erst nach einer Papaverinzugabe verschwinden.

Die isolierte Gebärmutter der Ratte, welche auf die Wirkung des Merkaptothiazolins sehr empfindlich ist, wird durch dieses deprimiert. Schon in einer Verdünnung von 1:10,000,000 tritt eine Verkleinerung der Uterusbewegungen und eine Senkung des Tonus auf; grössere Konzentrationen setzen sowohl den Tonus, als auch die Hubhöhe der Uterusbewegungen immer stärker herab. Konzentration von 1:1000 endlich ruft eine Uteruskontraktur hervor, welche durch eine Atropinzugabe nicht aufzuheben ist.

Zusammenfassung.

Unsere Versuche zeigen, dass Cysteamin und Merkaptothiazolin in ihrer pharmakologischen Wirkung ganz ausdrücklich voneinander abweichen, obwohl sie, vom pharmakologischen Standpunkte aus, dem Cystamin sehr ähnlich sind.

Toxizitätsversuche weisen nach, dass das Merkaptothiazolin (bei subkutaner Injektion) ebenso toxisch, das Cysteamin dagegen zweimal weniger toxisch, als Cystamin ist.

Beide untersuchten Körper, in kleineren Gaben verabreicht, rufen eine Vertiefung und eine Beschleunigung der Atmungsbewegungen hervor, bewirken also eine Anregung des Respirationszentrums. Grössere Dosen lähmen das Atmungszentrum und führen einen Respirationstod herbei.

Der Blutdruck der Säuger wird durch diese beiden Körper infolge einer Erweiterung der Darmgefässe herabgesetzt, wobei Merkaptothiazolin ca 5 mal schwächer, als Cysteamin wirkt.

Beide Körper, dem Cystamin ähnlich, üben in Perfusionsversuchen eine sehr schwache Wirkung auf die Blutgefässe aus; grosse Dosen Merkaptothiazolins rufen eine Erweiterung aller durchspülter Gefässe hervor, während ebenso grosse Dosen Cysteamins eine Erweiterung der Darm- und eine Verengerung der Haut-Muskelgefässe bewirken. Auf die Froschgefässe wirkt das Cysteamin erweiternd ein.

Die untersuchten Substanzen üben auf das Herz eine ebenfalls verhältnissmässig schwache Wirkung aus. Das Katzenherz „in situ“ bleibt praktisch unbeeinflusst. Das isolierte Kaninchenherz wird durch mittlere Dosen Cysteaminhydrochlorids angeregt, was sich durch eine Vergrösserung der Herzkontraktionen und durch eine Erweiterung der Koronargefässe bemerkbar macht. Das Merkaptothiazolin übt eine ganz umgekehrte Wirkung aus, indem es die Herzkontraktionen verkleinert und die Koronargefässe verengt. Beide Verbindungen üben eine depressive Wirkung auf das isolierte Froschherz aus; Cysteamin bewirkt einen diastolischen, umgekehrt Merkaptothiazolin einen maximal systolischen Stillstand des Froschherzens.

Cysteamin verursacht eine Hypo-, Merkaptothiazolin dagegen eine Hyperglykämie.

Beide Substanzen, ähnlich wie Cystamin, üben weder auf die Körperwärme, noch auf die Harnabsonderung einen ausdrücklichen Einfluss aus, sie bewirken jedoch eine kurzdauernde Verminderung der Galleausscheidung, welche stärker nach Merkptothiazolin, als nach Cysteamin sinkt.

Intravenös injiziert bewirken beide Verbindungen starke Darmkontraktionen und verstärken die Harnblasebewegungen. Auf die Bronchien üben sie keinen Einfluss aus. Sowohl Cysteamin, als auch Merkptothiazolin bewirken in mittleren Konzentrationen eine Depression der isolierten glattmuskeligen Organe. Starke Lösungen des Cysteamins verursachen eine Lähmung, die des Merkptothiazolins eine Kontraktur der isolierten glattmuskeligen Organe.

Literaturverzeichniss.

- A c k e r m a n n D. u. H e i s e n A. Zeitschr. f. physiol. Chem. 235, 115. — B l u m L. Hofmeister-Beiträge 5, 1 1903. — B r o g l i e u. M. H e i s e n A. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 183, 279 (1938). — R o b b e r s H. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 185, 461 (1937). — R o b b e r s H. Klin. Wochschr. 917 (1937).

[Institut de Physiologie de l'Université Joseph Piłsudski à Varsovie].

Jerzy Szulc.

Méthode d'angiostomie appliquée aux recherches sur l'absorption des sels du calcium par voie digestive ¹⁾.

Au fur et à mesure que les nouveaux travaux cliniques sur le métabolisme du calcium apparaissent ils apportent des idées divergentes sur l'absorption du calcium. La thérapeutique d'aujourd'hui offre une grande quantité de sels et de médicaments calciques complexes, en vue de fournir à l'organisme du calcium facilement absorbable et assimilable et administré par voie buccale. Le nombre de ces spécifiques augmente constamment. Dernièrement on propose surtout des combinaisons insolubles du calcium comme le malonate du calcium (Langstein) ou bien le mélange des sels insolubles de calcium, de phosphore et de magnésium, connu sous le nom de „Tricalcin”. Dans les notices de réclame il arrive de trouver des passages qui disent que les sels solubles du calcium, ainsi que l'ont prouvé des éminents cliniciens français (Sergent, Letulle, Renon, Teissier, Manoussakis et les autres) passent sans changement par le tube digestif sans être assimilés par l'organisme. Les sels insolubles sont seuls capables de pénétrer dans l'organisme et d'y être retenus.

Cette question est très importante pour les cliniciens qui tiennent à avoir un médicament de valeur. Elle est intéressante aussi au point de vue théorique et vaut la peine d'être étudiée de près. Dans littérature médicale qui m'était accessible je n'ai pu retrouver des travaux originaux des auteurs qui viennent d'être cités. Je n'ai trouvé que des résumés des conférences et il en ressortait qu'il s'agissait des travaux à caractère clinique.

¹⁾ Présenté dans la séance du 17.II.1938 de la Société Polonaise de Physiologie.

Ces faits sont difficiles à constater, car l'administration per os des doses même très élevées du calcium, n'influe qu'insensiblement grâce au mécanisme régulateur — humoral, sur le niveau du calcium de la grande circulation.

Nos expériences concernant l'absorption des sels calciques insolubles (Tricalcin) et solubles (chlorure de calcium ou gluconate de calcium) ont donné des résultats semblables. Après l'administration du calcium par voie buccale à un chien de vingt kilo les changements du niveau du calcium dans le sang périphérique n'étaient que très modérés.

Il nous semblait nécessaire d'aborder cette question d'une autre façon. Nous ne pouvons pas nous faire une idée exacte de l'absorption du calcium par le tube digestif en nous basant sur les examens du taux du calcium dans le sang périphérique. On sait bien que ce taux dépend beaucoup plus d'autres facteurs importants que de l'absorption elle même. Le pourcentage du calcium dans les matières fécales n'a non plus de valeur directe pour la mesure de l'absorption de cet élément car celles-ci contiennent à côté du calcium excrété aussi du calcium non absorbé. Enfin le calcium des urines constitue plutôt un reflet du métabolisme général du calcium et ne donne pas une idée exacte de l'intensité de l'absorption (par exemple une augmentation de la quantité de calcium dans les urines au cours de l'acidification de l'organisme sans aucune administration préalable du calcium per os). En tenant compte de toutes ces considérations l'examen du sang de la veine porte nous a semblé être du plus haut intérêt.

Technique.

En 1920 London a décrit une ingénieuse méthode de retirer le sang hors des vaisseaux sanguins situés profondément, au moyen d'une piqûre directe.

Le principe de cette méthode consiste à fixer au cours d'une opération aseptique, un mince tube de métal terminé par deux petites anses à la surface du vaisseau à examiner, au moyen de sutures de soie. Après la guérison de l'animal, on percera à volonté ce vaisseau à l'aide d'une longue aiguille introduite à travers le tube métallique. London a donné à sa méthode le nom d'„Angiostomie”, soit méthode de fistules vasculaires,

et s'en est servi pour ses expériences chimiques sur le sang des vaisseaux sanguins profondément situés.

En effectuant l'angiostomie de la veine porte, L o n d o n fixe sa canule métallique aux glandes lymphatiques situées dans le mésentère des deux côtés de la veine, ou bien il fixe cette canule à la veine porte elle-même après l'avoir au préalable fixée à la veine cave inférieure.

En 1925, H a b e r l a n d a modifié la méthode de L o n d o n. Il ouvre la cavité abdominale, atteint sa paroi postérieure, repousse sur les côtés la veine cave et l'aorte, ouvrant ainsi un libre accès aux muscles lombaires, il perce ceux-ci d'un trocart et insère une courte canule métallique, dont l'extrémité extérieure sortira du côté du dos non loin de la colonne vertébrale.

Il attire la veine porte vers la paroi postérieure de la cavité abdominale et l'assujettit aux muscles lombaires au-dessus de l'ouverture de la canule.

En travaillant à la préparation de chiens porteurs des fistules de la veine porte en vue de nos expériences, nous avons essayé les deux méthodes ci-dessus.

Les résultats obtenus au moyen de la méthode de L o n d o n n'ont pas donné de résultats satisfaisants: les chiens guérissaient mal, les canules se maintenaient très peu de temps.

Les principales causes de ces mauvais résultats nous paraissent être les suivantes:

1) L'insertion dans la cavité abdominale d'un tube métallique rigide, dont l'une des extrémités s'appuie sur l'endroit fragile où ce tube est fixé au vaisseau. De plus, la paroi abdominale mobile par suite de la respiration et de la locomotion, déplace le tube à l'endroit où il est fixé au vaisseau: il se produit des décubitus, et les sutures se détachent.

2) Tout choc extérieur rétentit directement sur le vaisseau.

3) La liberté des mouvements du chien est limitée, ainsi que sa faculté de se coucher.

4) La canule a tendance à tomber dans l'abdomen, et d'autre part, si elle est fixée aux téguments, elle se détache du vaisseau.

5) La suture de la veine porte à la veine cave étant effectuée, nous n'avons plus de certitude quant à la provenance du sang.

La méthode de *Haberland* donne des résultats meilleurs, qui, néanmoins, sont, eux aussi, incertains et peu durables, et ceci pour les raisons suivants :

1) La veine porte, artificiellement attirée vers la paroi postérieure de l'abdomen, revient à sa place antérieure, peu après que les sutures ont cédé et s'éloigne ainsi de la canule.

2) Les relations topographiques et les conditions de circulations dans le bassin de la veine porte sont considérablement changées, ce qui provoque des thrombus.

3) A cause du voisinage immédiat de l'orifice de la canule et de la veine cave, l'aiguille atteint fréquemment la veine cave au lieu de la veine porte.

Toutes ces raisons nous ont amenés à modifier la méthode de *London* et l'angiostomie de la veine porte est pratiquée actuellement dans notre Institut Physiologique de façon suivante :

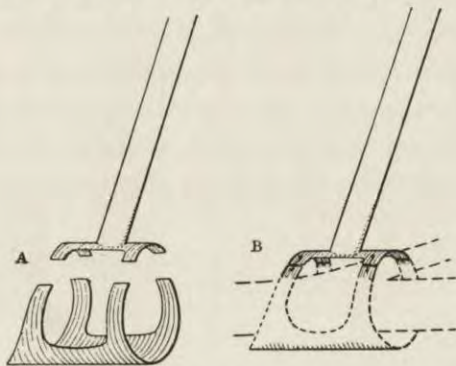


Fig. 1-A. Le manchon en caoutchouc avec ses quatre prolongements et un tube angiostomique également en caoutchouc avec une plaque à 4 prolongements correspondant à ceux du manchon.

Fig. 1-B. Le manchon appliqué contre la veine porte. Les prolongements du manchon recouverts avec les prolongements de la plaque du drain. La veine est comprise dans le manchon.

Sans avoir libéré la veine porte de ses téguments mésentériques, nous lui appliquons un manchon incomplet en caoutchouc souple et nous y fixons un drain également en caoutchouc, que nous faisons déboucher au dehors. Ce manchon est découpé dans un tube de caoutchouc à parois mince et il est muni de 4 prolongements (fig. 1-A).

Le drain est terminé par une plaque en caoutchouc munie de 4 prolongements correspondant à ceux du manchon. Celui-ci est placé sous le tronc de la veine porte sur la surface postérieure du mésentère et on fait passer ses prolongements par des orifices pratiqués deux par deux dans le mésentère, de deux côtés de la veine. On recoud les prolongements du manchon à ceux de la plaque du drain (voir notre fig. 1-B). Le tout est protégé au moyen de l'épiploon gastrocolique et nous faisons déboucher le drain à l'extérieur à travers les téguments. De cette façon la veine porte se trouve renfermée dans le manchon avec les parties immédiatement avoisinantes du mésentère, sans faire endommager les affluents latéraux, ni les parois du vaisseau, sans altérer non plus les conditions nutritives des parois du vaisseau ni les relations topographiques de la veine porte.



Fig. 2. Le manchon embrasse la veine porte. Le drain couvert des adhérences est mis en évidence par la dissection partielle. Une substance solidifiante remplit la veine porte.

1. La veine porte. 2. La v. cave.

Ainsi que l'ont démontré les autopsies (fig. 2), le manchon se trouve enclavé dans les adhérences cicatrisées du mésentère avec le péritoine et l'épiploon. La veine porte, englobé dans le manchon, ainsi que les affluents qui lui arrivent par les intervalles ménagés entre les prolongements du manchon conservent une parfaite conductibilité.

Le drain souple conduisant à l'extérieur s'enveloppe des adhérences du péritoine et on le coupe au ras de la peau. Le drain cause un minimum de gêne dans les mouvements et n'empêche pas la position couchée, puisque étant souple il se prête à toutes les positions que peut prendre l'animal.

On n'a jamais noté qu'un chien ait arraché son drain, chose qui arrive souvent dans le cas de tubes métalliques.

Au moment de la prise de sang, nous rendons rigide le drain en y introduisant un petit tube métallique, de même longueur que le drain, et nous perçons le vaisseau à travers le tube. La partie inférieure du manchon empêche l'aiguille de percer le mésentère et de pénétrer plus profondément.

Nous maintenons l'intérieur du drain dans un état aseptique au moyen de rinçages au Rivanol et en y faisant des injections d'une solution alcoolique de „Brillantgrün”, qui est un antiseptique non-irritant.

Dans nos expériences il nous était possible de faire plusieurs (jusqu'à neuf) prises de sang de vingt c. c. au cours de chaque expérience. Sur chaque animal on pouvait effectuer les expériences pendant quelques semaines. L'oblitération définitive du vaisseau y mettait fin.

Expériences.

Il a été fort intéressant de suivre les changements du niveau du calcium dans le sang de la veine porte après une surcharge préalable du tube digestif avec des sels calciques solubles ou non. Nous avons effectué une série de huit expériences sur les chiens porteurs d'une fistule artificielle de la veine porte. Après avoir prélevé un échantillon du sang de la veine porte à jeûn, on administrait à ces animaux soit du chlorure ou du gluconate de calcium dissous, soit du carbonate ou du malonate calcique délayé, dans du lait et l'eau à parties égales (200 c. c.). On calculait la dose de ces différents sels en tenant compte de leur richesse en calcium. Dans toutes ces expériences la dose du calcium par kilogramme d'animal était autant que possible la même et correspondait à 0.1 gr de l'élément calcium par kgr.

Sels du Ca administrés	Solubles		Insolubles	
	organique: gluconate de Ca	minéral: chlorure de Ca	organique: malonate de Ca	minéral: carbonate de Ca
Pourcentage *) du calc. pur . .	9.3%	18.2%	23.66%	40.0%
Doses équivalentes contenant 1 gr du Ca	10.75 gr	5.49 gr	4.22 gr	2.5 gr
Dose par kg appliquée dans nos expériences	1.075 gr	0.549 gr	0.422 gr	0.25 gr

*) Les nombres pour le gluconate et le malonate sont pris de la description des spécifiques. Pour le carbonate et le chlorure on les a évalué d'après les formules CaCO_3 et $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Sur le tableau I nous trouvons le calcul des doses de différents sels administrés au cours de nos expériences. Après l'administration du chaque sel par la voie buccale on prélevait de la veine porte trois ou quatre échantillons du sang à divers intervalles de temps (15, 30, 60, 90, 150 minutes) après l'ingestion. Le taux du calcium soit du plasma, soit du sérum était dosé à l'aide de la méthode de Kramer et Tisdall.

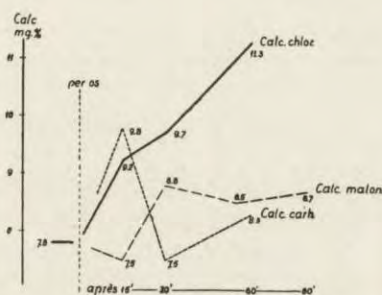


Fig. 3. „La chienne“. Les courbes du taux du calcium dans le sérum du sang de la veine porte après l'administration par la voie buccale des doses équivalentes du chlorure de calcium ———— malonate de calcium carbonate de calcium

Les courbes (fig. 3, 4 et 5) représentent le comportement du calcium du sang de la veine porte. Nous sommes frappés le plus par le fait que le taux du calcium de la veine porte présente l'augmentation la plus intense après l'administration du chlorure de calcium. On note un accroissement compris à peu près entre 3 et 6 mgr pour 100 au cours de deux heures qui suivent l'ingestion.

La courbe du taux du calcium dans la veine porte après l'ingestion soit du gluconate soluble soit du malonate ou carbonate insoluble est moins élevée et présente des oscillations au cours du processus de l'absorption.

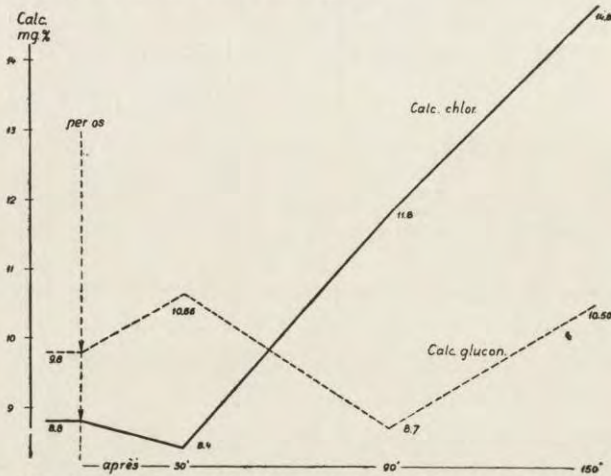


Fig. 4. „Le chien blanc“. Ca dans le plasma de la veine porte après l'administration du chlorure de calcium ——— gluconate de calcium - - - - -

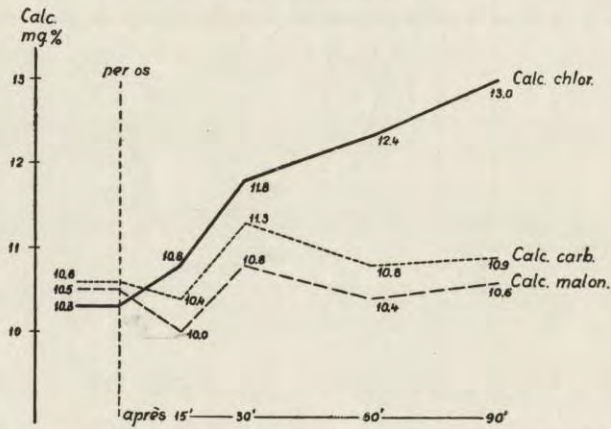


Fig. 5. „Le petit chien“. Ca dans le sérum de la veine porte après l'administration du chlorure de calcium ——— malonate de calcium - - - - - carbonate de calcium

La comparaison des courbes de différents sels nous oblige de constater qu'au point de vue de l'absorption les sels insolubles n'ont aucune supériorité par rapport aux sels solubles.

Ces résultats restent absolument d'accord avec les expériences de K o f l e r, F i s c h e r et W o k e s. Ces auteurs injectaient au souris blanches du sulfate de magnésium une heure après l'ingestion du calcium.

Des dosages minutieux (W o k e s) ont démontré par ex. que 0.15 mgr du calcium par gramme de poids d'animal „neutralisaient” sous la forme de chlorure — 0.78 mgr de sulfate de magnésium, sous la forme de lactate — 0.56 mgr de sulfate de Mg et que le gluconate ne neutralisait que 0.35 mgr de $Mg SO_4$.

Ces expériences conduisent également à l'attribution du rôle prédominant au sels solubles et au chlorure de calcium, au point de vue de l'intensité de l'absorption.

La question du métabolisme du calcium demande encore à être approfondie. Néanmoins, en étudiant de près l'absorption qui en constitue un fragment très important il nous est permis de conclure que:

1) les sels insolubles sont moins avantageux que les sels solubles du point de vue de l'intensité de l'absorption par le tube digestif;

2) le chlorure de calcium administré par la voie buccale est supérieur aux autres sels du calcium.

Resumé.

Pour avoir des chiens avec une fistule permanente de la veine porte nous avons essayé la méthode d'angiostomie (fistule vasculaire) de L o n d o n avec un tube métallique ainsi que cette méthode modifiée par H a b e r l a n d t.

Nous avons constaté des inconvénients au cours d'application de ces deux méthodes (la technique opératoire complexe, l'impossibilité de maintenir en place le tube inséré, l'incertitude quant à la provenance du sang qu'on retire).

En tenant compte de ces inconvénients nous avons effectué les opérations ultérieures en nous servant de drain en caoutchouc et en appliquant un manchon spécial embrassant la veine porte.

Cette modification nous a donné la certitude absolue quant à la provenance du sang du vaisseau désiré.

Enfin les tubes en caoutchouc se maintenaient en place beaucoup plus longtemps que les tubes angiostomiques métalliques et par conséquent les animaux pouvaient servir aux expériences pendant plusieurs semaines.

Les chiens préparés de cette manière nous ont servi aux recherches sur l'absorption de différents sels du calcium par le tube digestif.

1) Après l'administration aux chiens du carbonate, malonate, chlorure et gluconate de calcium per os on observe une augmentation du taux du calcium dans le sang de la veine porte qui est la plus marqué et la plus vive à la suite de l'ingestion du chlorure. Ceci prouve que le chlorure qui est soluble et fortement ionisé est absorbé le mieux dans le tube digestif.

2) Les sels insolubles du calcium aussi bien le carbonate minéral, que le malonate organique ne présentent aucune supériorité par rapport aux sels solubles du calcium au point de vue de l'absorption.

En nous basant sur ces faits il nous semble que le chlorure de calcium mérite d'attirer plus d'attention dans le traitement par la voie buccale. Son goût désagréable est recompensé par sa vitesse d'absorption. On a tort de le remplacer dans la thérapeutique par des médicaments plus coûteux et moins efficaces.

Bibliographie.

Ferrier etc. La Presse Medicale. 1906, 27 (214). Münch. Mediz. Wechschrft. 196/I (781). Fischer vide Kofler. — Haberlandt H. F. O. Abderhalden Handb. d. biolog. Arbeitsmethoden, Abt. 5, Teil 3c (181). — Kofler, Fischer. Ber. ü. ges. Phys. 56 (393). — London. Erg. Physiol. 26 (320). Angiostomie und Organestoffwechsel, Moskau 1935. — Renon vide Ferrier. — Sergent vide Ferrier. — Szulc. Zeitschr. f. d. ges. Exper. Mediz. 99 (74). — Verzar. Erg. Physiol. 32 (455). — Wokes. Ber. ü. ges. Physiol. 66 (143).

[Institut für Physiologie der Johann Casimir-Universität in Lwów].

Z. Bieliński.

Einfluss der Gase bei ihrer direkten Durchleitung durch den Carotissinus¹⁾.

Die aus dem Schrifttum bekannten Media, die zur Durchspülung des Carotissinus benützt wurden, waren ausschliesslich flüssig. Es war entweder fibrinhaltiges oder defibriertes Blut, oder verschiedene als physiologisch geltende Lösungen, durch deren Vermittlung die mechanischen, chemischen und pharmakologischen Einflüsse ausgeübt wurden. Soweit bekannt ist, wurde die Durchspülung des Carotissinus direkt mit Gasen bisher nicht ausgeführt. Es sollte deshalb in der vorliegenden Versuchsserie untersucht werden, wie die gewöhnlichen Gasanteile der Luft auf die Nervenendungen des Hering'schen Nerven in der Carotissinuswand wirken, wenn sie direkt in den Sinus in Gasform ohne irgendeine Flüssigkeit eingeführt werden.

Die Gase konnten so wie Flüssigkeiten: a) mechanisch oder b) chemisch wirken. Sie konnten: c) entweder im Strom durch den Sinus durchgeleitet werden, d) oder stationär in dem Sinus als blindem Sack, dessen Ausgangsleitung zugesperrt wurde, ihre Wirkung ausüben.

Die Versuche wurden an 42 Hunden ausgeführt. Es wurde am chloralosierten Hunde der Carotissinus vasculär isoliert, sowie der Blutdruck und die Atembewegungen registriert. Nachher wurde Luft (resp. ein anderes Gas) in den auf diese Weise herauspräparierten Sinus eingeblasen und die durch diesen Vorgang hervorgerufenen Veränderungen im Kreislauf und Atmung beobachtet. Dies war insofern schwierig, als — zwecks Ver-

¹⁾ Vorgetragen am 6.V.1938 während der Sitzung der Abteilung der Polnischen Physiologischen Gesellschaft in Lwów.

meidung einer Luftembolie im übrigen Kreislauf — der Carotissinus vor der Gaseinführung möglichst exakt vom übrigen Gefäßnetz isoliert werden musste; gleichzeitig sollte die Nervenversorgung intakt bleiben.

Die ausgeführten Versuche liessen folgende Schlüsse zu:

Es erwies sich, dass der Druck des sich im Sinus befindenden Gases innerhalb gewisser Grenzen streng quantitativ an das Verhalten des Blutdruckes, sowie der Herz- und Atemaktion des Tieres gebunden ist.

Die Einführung von Gas (Luft, Sauerstoff, Kohlendioxyd) in das isolierte Gefäßlumen des *Sinus caroticus* unter 220 mm Quecksilberdruck, nach Durchschneidung der *nn. vagi* und nach dem Entnerven des 2-ten Sinus, ruft eine rapide Senkung des Blutdruckes hervor (manchmal bis um 155 mm Hg), wobei der vorherige Stand gleich schnell erlangt wird, wenn der Gasdruck im Sinusinnern den Nullwert erreicht. Die Herzaktion wird etwas verlangsamt, während die Atmungsaktion einer Abflachung und Verlangsamung, die bis zum völligen Stillstand steigen kann, unterliegt. Bei Drucksenkung im Innern des *Sinus caroticus* kommt es zu entgegengesetzten Erscheinungen.

Wenn der Gasdruck im Sinus stufenweise vermehrt wird, bemerkt man eine stufenweise Gefäß- und Atemreaktion bei ca. 70 — 90 mm Quecksilberdruck. Bei Erhöhung des Gasdruckes über 220 mm Quecksilber wurden keine Veränderungen mehr beobachtet.

Wenn die Werte des endovaskulären Gasdruckes im Carotissinus gegen die Werte des entsprechenden allgemeinen Reflexblutdrucksturzes graphisch im Ordinatensystem dargestellt werden, so bekommt man bei Bestimmung mehrerer Punkte S-förmige Kurven, die den mit flüssigen Medien erreichten Kochschen Kurven ganz ähnlich sind. Es wird also auch quantitativ bewiesen, dass der durch Gase erzeugte Carotissinusreflex dieselben Eigenschaften besitzt wie derjenige mit Flüssigkeiten.

Es wird in einer der folgenden Mitteilungen näher erörtert werden, ob irgendwelche Unterschiede in der Wirkung der verschiedenen bei der Perfusion angewandten Gase auf den Carotissinus beobachtet werden können.

Es konnte kein Unterschied im Charakter der Reflexe festgestellt werden, wenn die Gase im Strom durchgeleitet wurden, oder stationär einwirkten.

Wenn der Sinus mit reinem Sauerstoff ausgefüllt war und von Zeit zu Zeit der Sinusreflex durch Erhöhung des Sauerstoffdruckes hervorgerufen wurde, konnte man die Reaktion noch nach 10 Stunden und 15 Minuten unter diesen abnormen Bedingungen nachweisen. Dies zeigte die hervorragende Lebensfähigkeit der Endungen des H e r i n g s c h e n Nerven, die ohne flüssiges Medium und ohne von aussen zukommende Nährstoffe, mit Ausnahme des gasförmigen Sauerstoffes, ihre Aufgabe ausführen können.

Wenn es auf irgendwelche Weise vorkommt, dass die drucksensiblen Gefässzonen bei der Luftembolie mit gasförmigem Medium ausgefüllt sind, so kann man auf Grund der vorliegenden Untersuchungen annehmen, dass die aus diesen Gefässstreifen ausgehenden Reflexe und Regulationen ungestört weiter währen können, da sie sich vom flüssigen Medium aus durch das gasförmige Medium fortpflanzen können.

Die Carotissinusreflexe sind also nicht an den Zustand des im Sinus verweilenden Mediums, ob flüssig oder gasförmig, gebunden, da der Druck eines in den Sinus eingeführten Gases ebenso die Reflexe hervorrufen kann, wie derselbe in einem flüssigen Medium.

[Institute of Physiology of the King John Casimir University in Lwów].

M. Wierzuchowski and Z. Borkowski.

Differentiation of the forms of glucose intoxication¹⁾.

During intravenous introduction of 20 p.c. glucose solutions at a constant rate we came across intoxication phenomena in dogs which for the present can be divided under four headings, so far as they concern the different experimental conditions in which they have been observed, and the course of intoxication:

- a) Acute intoxication during amytal anaesthesia, in resting animal.
- b) Acute course in normal animals at rest.
- c) Acute form in normal animals at work.
- d) Protracted forms in normal animals.

In order to get intoxication phenomena within a few hours of constant glucose infusion a certain rate of glucose supply was necessary. It became clear that the rates needed were relatively low in amytal anaesthesia, they were usually higher in normal animals at rest, and highest during work experiments. Protracted forms appeared when glucose intoxication was stopped at a certain point of blood glucose concentration. Dehydration was avoided in the present experiments.

a) *G l u c o s e i n t o x i c a t i o n d u r i n g a m y t a l a n a e s t h e s i a.* — Glucose was administered at a rate of 7 g./kg./hour. The most prominent sign of the intoxication was that after retention of some 700 to 800 c.c. of fluid in the body of a large dog, which appeared in the 2nd or 3rd hour of infusion transfusions appeared on the serous membranes, and they increased from hour to hour until the moment of death,

¹⁾ Presented at the Meeting of the Lwów Section of the Polish Physiological Society, May 6th, 1938.

when the retention of fluid amounted to 5 per cent of the body weight. When the retention of glucose solution increased some escape of fluid was also observed from the rectum, the stomach and the bowel being filled with fluid.

If anaesthesia was deep enough during the whole experiment there were either no signs of motor excitation or there appeared only some 15 minutes before death slight contractions and decontractions of the small muscles in the legs which caused a stretching of the claws like that in cat (3800 mg. p. c. of blood sugar in the carotid artery). Nystagmus, which is such a typical sign of high hyperglycaemia in unanaesthetized animals, did not appear until the end. It did not appear even when the anaesthesia was not deep enough and the motor excitation phenomena developed in the form of slight convulsions of the leg and neck muscles. The deeper the anaesthesia the higher was the blood glucose level at which the convulsions appeared, and the slighter they were.

In the case of very deep anaesthesia the respiration rate was still 14 per minute 7 minutes before death, the body temperature showing an insignificant rise from 35.6 to 36.2°C, while the pulse amounted to 136 towards the initial value of 164. When the anaesthesia was not deep enough a hyperpyrexia appeared, causing a rise of several degrees perhaps coincidentally with the motor excitation phenomena, which then developed already at the level of 3050 mg. p. c.

The blood sugar curves rise during the whole experiment as glucose retention increases, but some time before death they increase at a greater slope. This is associated with a deterioration of diuresis and sudden further premortal increase of glucose retention.

The glucose balances in the organs are, before glucose infusion, perfectly normal in these dogs. During infusion they exhibit a very large retention of glucose with the exception of the region drained by the portal vein. Here possibly some glucose was reabsorbed from the peritoneal cavity containing some transfusion fluid with glucose, so that the values in the portal vein were higher than in the arterial blood supplying the intestine. At the moment of death the blood glucose concentration

amounted to 4100—4200 mg. p. c. in the carotid artery. Respirations stopped, while the heart was still beating, which pointed towards paralysis of the respiratory center as the immediate cause of death.

The blood haemoglobin concentration was 70 p. c. during infusion as compared with the initial value considered as 100 p. c. The difference in the haemoglobin concentration between the carotid artery and the jugular vein were not great enough to indicate in this way any larger effusion of fluid in the head.

The rate of glucose elimination towards which the kidney tends during high rates of glucose supply is the maximal one. If these maximal glucose elimination rates are compared in various experiments and calculated per square meter of surface area per hour a striking regularity is observed: namely 90 grams of glucose are eliminated per 1 sq. m. of surface area per hour regardless as to whether there was anaesthesia or not or whether the animal was at rest or at work. This value did not depend on the weight of the animal.

When the rates of glucose supply are raised above those which are associated with the maximal glucose elimination, the rate of glycosuria per sq. m. per hour diminishes both in normal dogs²⁾ and in those amytalized. The latter eliminated only 60 g. of glucose/sq./m./hour. The decrease of the eliminatig power of the kidneys for glucose may have been conditioned by the level of blood glucose, which might itself have caused a kidney lesion. For this purpose a definite high blood glucose level should be required. This, however, is not the case. The decrease of the glucose eliminating power of the kidneys appears already at the blood sugar concentrations, which in other experiments still give the normal maximal value. The most decisive factor seems to be the rate per hour at which the blood glucose rises. In the experiments, when the true maximal value is obtained, the average rise of blood glucose concentration amounts to 290 mg. p. c. per hour, whereas in the experiments with amytal anaesthesia the increment is more than double that amount: 700 mg. p. c. per hour. This quick rise of blood glucose concentration seems to depress the kidneys.

²⁾ M. Wierzuchowski, 1936, Journ. of Physiol., 87 (311).

The 7 g./kg./hour rate of glucose supply is therefore extremely high in amytal anaesthesia because amytal greatly depresses glucose assimilation. The absolute rate is not high, but it becomes excessive when offered to an organism with depressed capacity to assimilate glucose.

The respiratory exchange before glucose infusion showed an approximately normal level of the basal metabolism (on the average 940 cal./sq. m./24 hours) (Meeh - Rubner). During glucose infusion the oxygen consumption was raised so much that it corresponded to the maximal specific dynamic action of glucose. When hyperpyrexia and the signs of motor excitation appeared the O₂-absorption rose correspondingly. The CO₂-elimination was unusually low in these experiments, which manifested itself in a low non-protein R. Q. which never reached the unity. Probably some CO₂ was retained in the fluids stagnating in the body.

After death the following gross macroscopic changes are seen: Transfusions from the serous membranes, which appear normal; signs of acute kidney lesion and changes in the brain and meninges. The subdural space is filled with abnormal amounts of cerebrospinal liquid and the vessels on the brain surface are dilated. Hyperaemia may be seen also on the internal surface of the lateral ventricles of the brain. Hypophysis is hyperemic. Abdominal organs and the skin are edematous.

The mechanism of the development of this form is the following: Probably because of the quick rise of blood glucose but also owing to its high concentration, the glucose eliminating power of the kidneys is depressed and glucose accumulates in the body, retaining water with it. The retained fluid is partially eliminated into the serous cavities. The accumulating glucose and the changes in the meninges stimulate various centres of the brain only inasmuch as they are not depressed by amytal anaesthesia. The animal is killed by the blood glucose level, which amounts to 4200 mg. p. c.

b) Glucose intoxication appearing in normal resting dogs has already been described³⁾. The rate of

³⁾ M. Wierzuchowski, Proc. Physiol. Soc., 1936, Journ. of Physiol., 87.

glucose supply was about 8 to 9 g./kg./hour. There was vomiting, restlessness, undulating nystagmus (2500 mg. p. c. of blood sugar), epileptoid convulsions and hyperpyrexia (2800 to 3000 mg. p. c. of blood sugar), first slight then strong (3000 mg. p. c.) decrease of diuresis, furious type of behaviour and finally death at 3700 to 3800 mg. p. c. of blood sugar, when paralysis of the respiratory centre appeared. There is no larger retention of fluid in the body. On dissection, strong dilatation of the blood vessels of brain surface, kidney lesions, edema and hyperemia of the pancreas and strong dilatation of the blood vessels in the hypophysis are seen, so that this organ appears red coloured.

c) *G l u c o s e i n t o x i c a t i o n i n n o r m a l w o r k i n g a n i m a l.* As the assimilative power of the tissues is raised during muscular work in a treadmill, higher rates of glucose supply are needed to get the intoxication phenomena within a few hours. The rate applied was 11 g./kg./hour. The dog was run at a speed of 3.5 thousand meters per hour, performing the work of 11 to 12 thousand kgm per hour. The relative haemoglobin concentration as compared with the pre-infusion value considered as 100 p. c. amounted to 81 p. c.

The blood sugar curve rose steadily without any important change of the slope. The dog was running in a normal way. At the beginning of the 4-th hour trembling of the animal, restlessness of the eyes and transitory nystagmus (2515 mg. p. c. blood sugar) were observed.

18 minutes before death the animal became weaker, halted from time to time and began to stagger. At a concentration of 2550 mg. p. c. of blood sugar fits of epileptoid convulsions appeared at short intervals and made walking during the paroxysm impossible. Within 15 minutes from their first appearance the animal died at a blood sugar level of 2720 mg. p. c. after 4 hours' infusion of glucose.

There were no signs of any important kidney lesion, or distinct decrease of diuresis, and no vomitings were present. No retention of fluid in the body was noted. At the dissection, except strong dilatation of the blood vessels on the brain surface

in the pia-arachnoid, no other macroscopic changes could be found.

There is a certain regularity in the development of the motor excitation phenomena and the appearance of death as compared with the values of blood sugar. The greater the activity of the brain during glucose intoxication, the lower seems to be the blood sugar concentration at which convulsions may not appear at all, and death follows at the highest level of blood sugar ever found in the present experiments (4200 mg. p. c.). In normal resting dogs convulsions appear at 3000 mg. p. c. and death at 3800 mg. p. c. In walking animals convulsions are found at a blood sugar concentration of 2550 and death at 3800 mg. p. c. In walking animals convulsions are found at a blood sugar concentration of 2550 and death at 2720 mg. p. c.

d) **P r o t r a c t e d f o r m s o f g l u c o s e i n t o x i c a t i o n.** The higher the blood sugar level at which the stop of glucose supply was made the sooner the fatal end approached. When it was raised to 3200 mg. p. c. death occurred within a few minutes after the glucose supply had been cut short. When it was raised to only 2500 mg. p. c. death could not follow at all, or it occurred only some days later. There were then symptoms of anuria, nervous affections, motor discoordination, amaurosis, etc., indicating a permanent anatomic lesion.

[Mathematisches Seminar und Institut für Physiologie der Johann Casimir-Universität in Lwów].

H. Steinhaus und M. Wierzuchowski.

Diabetische Grenze der Glykoseverbrennungsfähigkeit beim normalen Wirbeltierorganismus im Ruhezustand. Versuch einer mathematischen Formulierung ¹⁾.

Eine von **Wierzuchowski**²⁾ an zwei Hunden durchgeführte Serie von Respirationsversuchen hat eine Reihe von Angaben geliefert, die der Oxydationsgeschwindigkeit der Glykose im Wirbeltierorganismus von Stunde zu Stunde bei einer sechsständigen intravenösen Zufuhr der Glykose entsprechen, wobei die Zufuhrsgeschwindigkeit in jedem Versuch konstant war, aber von Versuch zu Versuch variierte; die extremen Geschwindigkeiten waren 1 und 9 (in Gramm Glykose per kg Tiergewicht pro Stunde; diese Einheit wollen wir beibehalten). Bei 9 g/kg/St stellte sich eine Störung der Nierenfunktion ein, so dass die Daten für diese Geschwindigkeit wegfallen mussten.

Die Beobachtung erstreckte sich auf 2 bis 3 Stunden vor Beginn der Zufuhr, dauerte während der 6 Stunden der Zufuhr und umfasste 7 weitere Stunden nach Einstellung der Zufuhr (**Wierzuchowski**, 1935—1937).

Es boten sich als funktionell miteinander verbundene Größen: v_{O_2} = Oxydationsgeschwindigkeit der Glykose beim Hunde, v_i = Dauerzufuhrsgeschwindigkeit (beides in g/kg/St.) und t = der Zeitmoment, in Stunden, vom Zufuhrbeginn an gerechnet.

Wenn man die Oxydationsgeschwindigkeiten, die in verschiedenen Versuchen demselben Zeitpunkt entsprechen, als

¹⁾ Vorgetragen an der Sitzung der Abteilung Lwów der Polnischen Physiologischen Gesellschaft am 6.V.1938.

²⁾ **M. Wierzuchowski**: 1935; C. R. Soc. Biol. 119 (664).—1937; Acta Biologiae Experim. 11 (284). — 1937; Journ. of Physiol. 90 (440).

Funktion der variablen Zufuhrgeschwindigkeit v_i betrachtet, so lässt sich bereits aus früheren Publikationen ersehen, dass sie mit wachsendem v_i einem Grenzwert zustreben: für das Mittel aus der 4, 5 u. 6-ten Stunde hat *W i e r z u c h o w s k i*²⁾ (1937) sogar eine Exponentialfunktion mit einem additiven Term angegeben, welche diesem Verhalten gerecht wird. Dieses bedeutet, dass der Zuwachs der Oxydationsgeschwindigkeit beim konstanten Zeitpunkt der bereits vorhandenen Oxydationsgeschwindigkeit umgekehrt proportional ist.

Dasselbe Verhalten konnte nun für einen jeden Zeitpunkt beobachtet werden. Es konnte nämlich die Exponentialfunktion

$$(1) \quad v_{o_2} = A \left(1 - 10^{-Bv_i} \right)$$

durch entsprechende Wahl der positiven Konstanten A, B dem tatsächlichen Verlauf der Erscheinung befriedigend angepasst werden, indem diese Konstanten für jeden Zeitpunkt für sich bestimmt wurden.

Auf diese Weise sind folgende 10 Formeln entstanden:

(2)

Stunde 1	$v_{o_2} = 0.2917 (1 - 10^{-0.2374 v_i})$	} (während der Zufuhr)
„ 2	$v_{o_2} = 0.6957 (1 - 10^{-0.2839 v_i})$	
„ 3	$v_{o_2} = 0.7263 (1 - 10^{-0.2368 v_i})$	
„ 4, 5, 6 (Mittelwert)	$v_{o_2} = 0.6983 (1 - 10^{-0.3141 v_i})$	
„ 7	$v_{o_2} = 0.625 (1 - 10^{-0.3039 v_i})$	} (Abklingen nach Einstellung der Zufuhr)
„ 8	$v_{o_2} = 0.5447 (1 - 10^{-0.2476 v_i})$	
„ 9	$v_{o_2} = 0.4737 (1 - 10^{-0.2112 v_i})$	
„ 10	$v_{o_2} = 0.4453 (1 - 10^{-0.1959 v_i})$	
„ 11	$v_{o_2} = 0.4133 (1 - 10^{-0.1672 v_i})$	
„ 12	$v_{o_2} = 0.3863 (1 - 10^{-0.2048 v_i})$	

Wir haben also von der 13-en Stunde abgesehen. Die Formeln wurden von *Frl. H. Plamitzer* berechnet und mit den Beobachtungsdaten verglichen. Bei 80 Werten im Ganzen sind 52 mit einem Fehler unterhalb 5% behaftet, 8 weisen einen Fehler von 5 bis 7% auf und 20 überschreiten die 7%-Fehlergrenze. Die grössten Fehler kommen in der 12-en Versuchsstunde vor und in den meisten Stunden bei $v_i = 1$. Ein Ausschluss dieser Daten würde die Übereinstimmung der Formeln (2) mit den empirischen Daten steigern.

Ein Blick auf das Schema der empirischen Werte der oxydierten Glykose — die wir uns zweckmässig in Zeilen und Kolonnen geordnet denken, wobei jede Zeile einem v_i - Wert, jede Kolonne einem t - Wert entspricht — genügt, um die Kleinheit des Unterschiedes der vorletzten und der letzten Zeile zu erkennen. Das bedeutet aber, dass die Oxydationsgeschwindigkeit A die nach Formel (1) erst für $v_i = \infty$ als Grenzgeschwindigkeit erscheint, bereits für $v_i \geq 7$ praktisch erreicht wird. Es wird also bei den grossen, d. h. 7 übersteigenden Zufuhrgeschwindigkeiten ein stationärer Zustand erreicht, der durch eine Vergrösserung der Zufuhrgeschwindigkeit kaum wesentlich beeinflusst werden kann.

Die Konstanten A, B sind für jeden t - Wert (d. h. für jede Kolonne) verschieden; sie sind Funktionen der Zeit: $A(t), B(t)$. Die Gestalt dieser Funktionen hat Frl. H. Plamitzer für die Nachinjektionsstunden $t = 7$ bis $t = 12$ als

$$(3) \quad A(t) = \frac{5}{t+1}, \quad B(t) = \frac{6}{t+5} - 0.2$$

angegeben.

Geometrisch entsprechen diesen Funktionen Hyperbeln. Verbindet man die Formeln (1) und (3), so erhält man

$$(4) \quad v_{o_2} = \frac{5}{t+1} \left[1 - 10^{-\left(\frac{6}{t+5} - 0.2\right) v_i} \right],$$

also die Oxydationsgeschwindigkeit während der Nachinjektionszeit als Funktion der beiden Variablen v_i und t . Fixiert man hier irgend einen Wert von v_i , so wird diese Funktion eine Funktion von t allein, welche die zum entsprechenden Versuch (= Zeile) gehörigen Werte liefert; es wird damit der Verlauf des entsprechenden Versuches für die Nachinjektionszeit dargestellt. Der Vergleich von (4) mit den Beobachtungsdaten zeigt 14 Fehler über 7%, 34 Fehler unter 7%.

Für $v_i = \infty$ geht (4) in die Formel

$$(5) \quad v_{o_2} = \frac{5}{t+1} (= A(t))$$

über. Dieser verhältnismässig einfache Ausdruck gibt also das Bild des Abklingens der Glykoseverbrennung nach Einstellung der Zufuhr bei vormaliger maximaler Sättigung mit Glykose.

Leider lassen sich die Werte der Glykoseverbrennung während der Infusion selbst nicht durch die Formel (4) ausdrücken und nicht einmal durch eine andere Funktion zweier Variablen. Eine graphische Interpolation bringt jedoch eine unverkennbare Gesetzmässigkeit zum Vorschein. Offenbar spielen hier aber kompliziertere Faktoren eine Rolle als während der Nachinjektionszeit, so dass sogar die frei gezeichneten Kurven hier und da beträchtlich von den Beobachtungsdaten abweichen.

Wir resümieren das Vorhergehende: Die Werte der oxydativen Glykoseausnützung lassen sich für jeden Zeitpunkt als exponentielle Funktion der Zufuhrgeschwindigkeit während und nach der Infusion ausdrücken. Für die Nachinjektionszeit lässt sich sogar ein mathematischer Ausdruck bilden, der in befriedigender Weise alle Zufuhrgeschwindigkeiten und Zeitpunkte umfasst. Für beide Perioden gibt es einen Grenzzustand, welcher bei einer Steigerung der Zufuhrgeschwindigkeit nicht mehr übertroffen werden kann; dieser Zustand, der etwa bei 7 g/kg/Stunde erreicht wird, klingt nach Einstellung der Zufuhr hyperbelartig ab. Er entspricht einer Art von Diabetes.

Es ist nun merkwürdig, dass dieses diabetoide Grenzverhalten auch für die Zeitpunkte nach der Injektion massgebend ist, indem in jeden Zeitpunkt die Verbrennung der Glykose maximal ist im Vergleich mit derjenigen Verbrennung, die in demselben Zeitpunkte stattfinden würde, wenn der Organismus vorher nicht gesättigt worden wäre.

[Institut für Zoophysiologie der J. Piłsudski Universität Warszawa].

W. Niemierko.

Über eine Methode zur Bestimmung sehr kleiner Zuckermengen.

Eingegangen am 18. Juni 1938.

Seitdem Hagedorn und Jensen ('23) ihre bekannte Mikrozuckerbestimmungsmethode veröffentlicht haben, fand dieselbe dank ihrer vielen Vorteilen weite Verbreitung. Sie hat noch mehr an Bedeutung gewonnen nachdem Fujita und Iwatake ('31) durch die Einführung eines stark alkalischen Phosphat-Puffer Bedingungen festlegten, unter welchen die verbrauchte Ferricyankaliummenge der vorhandenen Zuckermenge proportional war. Wie bekannt, verlangt die besprochene Methode eine Menge von ungefähr 0.1 mg Glukose; die Bestimmungen kleinerer Zuckermengen können dagegen nur mit einem grossen Fehler ausgeführt werden. Da es für manche biochemische Zwecke sehr erwünscht wäre, noch viel kleinere Zuckermengen bestimmen zu können, so schien es zweckmässig zu sein, die erwähnte Methode so umzuarbeiten, dass eine Bestimmung von nur einigen tausendstel mg (γ) Glukose mit einer genügenden Genauigkeit möglich sei. Linderstrøm-Lang und Holter ('33) haben eine auf einem anderen Prinzip gestützte Methode bereits beschrieben, und zwar eine solche, die mit Hilfe ihrer schönen Mikrotechnik (Linderstrøm-Lang und Holter '31) die Möglichkeit bietet, kleine Zuckermengen ($< 40 \gamma$) mit einer Genauigkeit von 0.25γ zu bestimmen. Da aber die Autoren mit ziemlich konzentrierten Zuckerlösungen arbeiten (1.5%), die sie in äusserst kleinen Mengen (6—7 λ) zu Bestimmungen abmessen, so ist ihre Methode nur auf gewisse spezielle Zwecke beschränkt und kann kaum eine allgemeine Bedeutung haben.

Vor kurzem haben Heck, Brown und Kirk ('37) eine cerometrische Zuckerbestimmungsmethode beschrieben, die zwar 1 bis 12 γ Glukose zu bestimmen erlaubt, erfordert jedoch eine ziemlich komplizierte Technik. Die Methode von Fujita und Iwatake wurde vor einigen Jahren von Rappaport und Pistiner ('34) zur Glukosebestimmung in 0.02 ml Blut angewendet, wobei zur Endtitration eine n/1000 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung gebraucht wurde. Da aber solch eine verdünnte Lösung keinen scharfen Übergangspunkt gibt, so konnten wir leider mit dieser Methode keine befriedigende Resultate erhalten.

Das Prinzip unserer Modifikation der Methode von Fujita und Iwatake besteht im Folgenden. Der Zucker wird mit Hilfe einer Kaliumferricyanidlösung oxydiert, wobei die Gesamtmenge der Reagenzien ungefähr 20 mal kleiner ist als die in Originalvorschrift angegebene. Der Überschuss der Ferrilösung wird nachher jodometrisch mittels einer in 1/1000 ml eingeteilten Quecksilberbürette von Pinkussen ('28) bestimmt.

Arbeitsvorschrift.

Erforderliche Reagenzien.

1. Kaliumferricyanidlösung: 0.066 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 5.6 g K_2HPO_3 und 1.68 g K_3PO_4 in 100 ml Lösung.

2. Jodkaliumlösung: 25.0 g NaCl, 5.0 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ und 2.5 g KJ in 100 ml Lösung (KJ wird erst unmittelbar vor jeder Versuchsreihe zugegeben).

3. Verdünnte Salzsäure: 1 Teil konz. HCl und 1 Teil H_2O .

4. n/200 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung.

5. 0.25% Stärkelösung in gesättigter NaCl-Lösung.

Ausführung der Bestimmung.

Die Versuchslösung in einer Menge, die 0.5 ml nicht überschreitet, wird in ein Probierröhrchen von 60 mm Höhe und 15 mm Durchmesser genau einpipettiert¹⁾. Alsdann setzt man

¹⁾ Zur Abmessung von 0.2 bis 0.5 ml Flüssigkeit bedienen wir uns der von der Firma Kobe—Berlin nach dem Prinzip von H. Fuchs hergestellten Pipetten.

0.25 ml Kaliumferricyanidlösung (1) und nötigenfalls Wasser bis auf 0.75 ml zu. Man bedeckt die Röhrchen mit kleinen Kühlern²⁾ und erhitzt sie 15 Minuten in siedendem Wasserbad. Nach dem Abkühlen setzt man 3 Tropfen der Jodkaliumlösung (2), 2 Tropfen verdünnter Salzsäure (3), 1 Tropfen Stärkelösung (4) zu, und titriert das ausgeschiedene Jod mit $n/200$ Tiosulphatlösung bis farblos mit Hilfe einer in 1/1000 ml eingeteilten Quecksilbermikrobürette von Pinkussen. In derselben Weise werden Blindversuche ausgeführt, wobei anstatt der Zuckerlösung 0.5 ml Wasser zugesetzt wird.

Das Mischen während der Titration geschieht mittels Kohlensäurebläschen, die in einem Kipp'schen Apparat entwickelt, in einer mit Wasser gefüllten Waschflasche gereinigt werden und durch ein fein ausgezogenes Kapillar-Röhrchen in die zu titrierende Flüssigkeit hineinströmen können. Mittels eines Quetschhahnes leitet man von Zeit zur Zeit den CO_2 -Strom ein und mischt die Flüssigkeit gut durch.

Die Menge der gefundenen Glukose berechnet man laut folgender Formel: $x = 0.174 (a-b)$, wo x der in γ ausgedrückte Glukosegehalt, $a = \lambda$ Tiosulphatverbrauch des Leerwertes und $b = \lambda$ der des Vollwertes ist.

Die beschriebene Methode wurde auf ihre Genauigkeit mit einer reinen Glukoselösung geprüft. Einige der erhaltenen Resultate sind in der Tab. I veranschaulicht. Wie aus der Tabelle ersichtlich, werden für Glukosemengen von 5—10 γ sehr genaue Werte erzielt. Der mittlere Fehler einer Einzelbestimmung beträgt $\pm 0.1 \gamma$ ($\pm 1-2\%$). Falls grössere Zuckermengen zu bestimmen sind, kann man die Menge der Reagenzien und ihr Volumen verdoppeln. Der Titrationsübergangspunkt ist in diesem Fall zwar nicht so scharf, der mittlere Fehler aber in $\%$ ausgedrückt bleibt derselbe.

²⁾ Als Kühler benutzten wir Kügelchen, die aus einem Glasrohr ausgeblasen und von beiden Seiten birnenförmig ausgezogen und zugeschmolzen waren. Der Durchmesser dieser Kühler betrug ca. 17 mm, die Länge—50 mm.

Tabelle I.

Glukosebestimmung in einer reinen Glukoselösung.

Blindwert n/200 Na ₂ S ₂ O ₃	Genom- mene Menge Glukose	n/200 Na ₂ S ₂ O ₃	Verbrauchte Menge der n/200 K ₃ Fe(CN) ₅	Gefundene Menge Glukose		Abweichungen vom teoretischen Wert		
				λ	γ	γ	%	
λ	γ	λ	λ	γ	%	γ	%	
	10.08	26.6	58.0	10.09	100.1	+ 0.01	+ 0.1	
	„	26.8	57.8	10.06	99.8	- 0.02	- 0.2	
	„	26.1	58.5	10.18	101.0	+ 0.10	+ 1.0	
	„	25.8	58.8	10.23	101.5	+ 0.15	+ 1.5	
84.8	„	27.0	57.6	10.02	99.4	- 0.06	- 0.6	
84.5	„	27.2	57.4	9.99	99.1	- 0.09	- 0.9	
84.7	„	27.2	57.4	9.99	99.1	- 0.09	- 0.9	
84.3								
84.7								
			Mittelwert:	10.08 ± 0.10	100.0 ± 1.0	0 ± 0.1	0 ± 1	
Mittel- wert:	84.6	5.04	55.3	29.3	5.10	101.2	+ 0.06	+ 1.2
	„	„	55.3	29.3	5.10	101.2	+ 0.06	+ 1.2
	„	„	55.4	29.2	5.08	100.8	+ 0.04	+ 0.8
	„	„	55.5	29.1	5.06	100.4	+ 0.02	+ 0.4
	„	„	55.7	27.9	5.03	99.8	- 0.01	- 0.2
	„	„	56.7	27.9	4.85	96.2	- 0.19	- 3.8
			Mittelwert:	5.04 ± 0.10	100.0 ± 2.0	0 ± 0.1	0 ± 2	

Während der Ausführung der Bestimmung soll das Folgende beachtet werden:

Erstens müssen die Röhren bei der Erhitzung unbedingt mit den Kühlern bedeckt sein. Zahlreiche Bestimmungen haben uns gezeigt, dass wenn man ohne Kühler arbeitet, man stets zu niedrige Werte bekommt und zwar für 10 γ Glukose nur 9.6 ± 0.16 γ, für 5 γ Glukose -4.6 ± 0.1 γ.

Zweitens soll man sofort nach dem Zusatz von Salzsäure titrieren. Laut Beobachtungen von Billewicz-Stankiewicz³⁾ wird jeder wässrigen Lösung (sogar auch dem destillierten Wasser) nach dem Erwärmen in einem Glasgerät (möglicherweise steht das nur mit gewissen Glassorten in Verbindung) eine Fähigkeit verliehen, die Oxydation von KJ zu J₂ zu beschleunigen. Säuert man also die ganze Analysenreihe

3) Eine Privatmitteilung.

gleichzeitig an, so findet man in den zuletzt titrierten Röhrchen einen ziemlich grossen Überschuss des freien J_2 , der die berechnete Zuckermenge verringert.

Zusammenfassung.

Es wird eine Methode beschrieben, die es erlaubt, Glukose in einer Menge von 5—10 γ mit einer Genauigkeit von 1—2% zu bestimmen. Die Methode besteht in einer Verfeinerung des Verfahrens von Fujita und Iwatake. Zur Endtitration bedient man sich einer Quecksilbermikrobürette mit einer Teilung von 1/1000 ml.

Literatur.

Fujita A. und Iwatake. 1931. *Biochem. Z.* 242 (43). — Hagedorn und Jensen. 1923. *Biochem. Z.* 135 (46). — Heck, Brown and Kirk. 1937. *Mikroch.* 22 (306). — Linderstrom-Lang and Holter. 1931. *C. R. Lab. Carlsberg* 19 Nr. 4. — Linderstrom-Lang and Holter. 1933. *C. R. Lab. Carlsberg* 19 Nr. 14. — Pincussen. 1928. *Mikromethodik*. 4 Aufl. — Rappaport und Pistiner. 1934. *Mikroch.* 15 (111).

[Laboratoire de Physiologie de l'Institut Nencki, Varsovie].

L. Lubińska et Halina Rosenberg.

**Influence de la concentration des sels magnésiens sur
le muscle de Grenouille.**

Le présent travail continue la série de recherches entreprises dans ce laboratoire en vue d'élucider le mécanisme des troubles engendrés par l'ion magnésien dans les éléments excita- bles. Nous avons voulu étudier de plus près le comportement du muscle soumis à des concentrations variables des sels magné- siens.

L'excitabilité du muscle sous l'influence du magnésium fut déjà étudiée par un certain nombre d'auteurs, pour ne citer que les travaux récents par: *Desprès* sur le muscle de Grenouil- le ('31), *Hazard et Wurmser* sur l'Escargot et la Gre- nouille ('31, '34), *Arvanitaki et Cardot* sur le myocar- de de l'Escargot et de la Grenouille ('31) et *Lubińska* sur le muscle du Chat in situ ('33, '35). Nous avons tenu cependant à observer si l'accroissement des paramètres d'excitabilité est progressif avec la dose du magnésium et dans quelle mesure cet accroissement est lié aux troubles de la transmission neuro- musculaire. De plus, nous avons voulu comparer le comporte- ment de la partie neurale et aneurale du muscle avant et après la disparition d'excitabilité indirecte.

Nous avons choisi pour cette étude la préparation nerf cru- ral-muscle long adducteur de la cuisse de Grenouille, qui pré- sente pour nous les avantages suivants: le muscle est plat et très mince ce qui évite la nécessité des bains et des lavages trop prolongés, de plus, ainsi que l'ont montré *Meidinger* ('35) et *Bonvallet et Meidinger* ('35), il présente une disposition parallèle des fibres et une partie aneurale relative- ment étendue.

Technique.

Les expériences décrites dans le présent travail ont été effectuées sur les Grenouilles vertes (*Rana esculenta*) en deux périodes: juillet-octobre sur les animaux fraîchement capturés et février-mars sur les animaux ayant passé l'hiver au laboratoire.

On détruisait les centres nerveux de l'animal et on préparait rapidement le muscle long adducteur et le nerf crural de chaque côté. Les préparations séjournaient plusieurs heures dans le Ringer et on les transportait ensuite dans une chambre humide en paraffine. Certaines étaient gardées 24 heures sur la glace avant l'expérience. On posait le nerf sur les électrodes en argent chloruré et on piquait dans les régions aneurale et neurale du muscle trois fines pointes en argent chloruré également. Les petites lésions que l'on produit au cours de ces manipulations donnent lieu, ainsi que l'ont signalé D u l i è r e et H o r t o n ('29), à une diminution d'excitabilité de la préparation. Pour éliminer les effets de ces lésions on lavait à plusieurs reprises la préparation pendant une heure environ à l'eau physiologique.

Le circuit d'excitation comprenait soit une batterie de condensateurs en montage classique de L a p i c q u e, soit un chronaximètre de L a p i c q u e.

On attelait le tendon du muscle au levier d'un myographe auxotonique et on enregistrait les excursions du levier sur du papier enfumé.

Lorsque la préparation présentait les valeurs stables de rhéobase et de chronaxie, on introduisait dans la chambre en paraffine un mélange du Ringer et de la solution du sulfate de magnésium. La solution magnésienne était isotonique avec le sang de l'animal et contenait 5.45% de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, à $\Delta = 0.43^\circ$. On la mélangeait en différentes proportions avec du Ringer et on désignera dans la suite „solution magnésienne à 20%”, par exemple, le mélange contenant 20% de cette solution et 80% du Ringer.

La composition du Ringer pour les grenouilles d'été était celle qu'à indiquée F u l t o n ('26)

	mg%
NaCl	650
KCl	14
CaCl ₂	12
NaHCO ₃	20
NaH ₂ PO ₄	1

pour les grenouilles d'hiver celle de W a c h h o l d e r et M a t t h i a s ('33):

	mg%
NaCl	600
CaCl ₂	15
KCl	10
NaHCO ₃	30

Le bain magnésien durait généralement 10 minutes. On ne faisait des mesures qu'après avoir enlevé le liquide de la chambre musculaire. La

série de mesures qui suivait immédiatement le bain était considérée comme caractéristique des changements provoqués par la concentration étudiée du magnésium. Ensuite on lavait la préparation au Ringer et on étudiait entre les lavages succesifs les rhéobases et les chronaxies, jusqu'au retour de ces grandeurs à la norme. Souvent, pour gagner du temps, on se contentait du retour approximatif et on commençait le nouveau bain sans que les effets du précédent se soient entièrement dissipés.

Partie expérimentale.

Ces expériences comprennent deux séries. L'une faite sur les grenouilles fraîchement capturées, de juillet à octobre, l'autre sur les animaux ayant passé l'hiver au laboratoire, effectuée en février et en mars. Ces deux séries ont donné des résultats quantitativement différents, les préparations présentaient d'ailleurs certaines différences caractéristiques avant toute application du magnésium.

Grenouilles d'été. Les résultats de la première série peuvent être résumés ainsi. Les préparations présentent un accord parfait de la chronaxie nerveuse et musculaire dans la partie proximale. La partie distale présente une chronaxie environ deux fois plus grande.

En appliquant les proportions variables du magnésium, on constate que les variations nettes de la chronaxie n'apparaissent que lorsque la concentration de la solution magnésienne atteint 40% environ du mélange. Les concentrations inférieures ne provoquent pas de changement de la chronaxie ou n'en provoquent que de passagers qui disparaissent même sans lavage au Ringer.

Les concentrations plus fortes déterminent des troubles beaucoup plus persistants de la chronaxie. Ils ne disparaissent qu'après nombreux lavages.

On voit sur le tableau I que les différentes préparations présentent des variations individuelles assez importantes. Dans certaines les chronaxies augmentent progressivement avec la concentration de la solution magnésienne, dans d'autres la chronaxie monte jusqu'à ce que la concentration ait atteint 50—60% et s'arrête à un certain niveau que l'accroissement ultérieur de la concentration est incapable de faire monter davantage. Par-

Tableau I.

Grenouilles d'été. Muscle long adducteur. Variations des rhéobases et des chronaxies sous l'influence des bains à concentrations diverses de la solution magnésienne. Rhéobases et chronaxies initiales égales à 100.

№ de l'exp.	Date	C O N C E N T R A T I O N S															
		R h é o b a s e s					C h r o n a x i e s										
		20%	30%	40%	50%	60%	70-80%	100%	20%	30%	40%	50%	60%	70-80%	100%		
38	24.VII. 1936	300	—	—	—	110	—	—	—	360	—	—	—	3000	—	—	—
42	27.VIII.1936	—	—	223	—	218	—	—	—	—	—	—	—	1145	—	—	1430
45	2.IX. 1936	742	—	106	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
47	7.IX. 1936	—	—	187	—	240	—	—	—	—	—	—	—	300	—	—	6300
48	9.IX. 1936	—	109	144	108	100	—	—	—	—	—	—	—	300	1400	—	3630
49	12.IX. 1936	130	150	171	185	190	154	132	150	160	165	160	165	160	165	1600	3000
35	21.VII. 1936	—	—	—	148	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1166	—	—
38	24.VII. 1936	114	—	228	—	112	—	—	75	—	—	—	—	1333	—	—	2600
41	25.VIII.1936	—	—	—	—	—	—	—	262	—	—	—	—	—	—	—	1000
42	27.VIII.1936	—	—	—	—	230	—	—	158	—	—	—	—	1000	—	—	3120
44	31.VIII.1936	187	—	250	—	—	—	—	110	50	—	—	—	1400	—	—	3000
45	2.IX. 1936	200	—	284	—	150	129	119	106	—	—	—	—	1000	—	1500	1223
47	7.IX. 1936	—	—	150	—	200	88	300	—	—	—	—	—	923	—	2000	2500
48	9.IX. 1936	—	132	132	121	150	—	—	—	—	—	—	—	1300	125	1000	1000
49	12.IX. 1936	100	105	120	112	101	121	200	100	100	132	148	125	1300	148	1300	2500
	Moyennes	253	124	190	135	162	127	181	140	170	897	775	1250	1780	2610		

fois l'accroissement de la chronaxie se fait par échelons, dans les cas isolés on trouve une augmentation plus marquée de la chronaxie pour une concentration plus faible que pour une concentration un peu plus forte. Ceci dépend dans une certaine mesure de l'ordre dans lequel les bains de différentes concentrations avaient été appliqués, chaque bain succesif a tendance de produire les effets un peu plus forts que le bain précédent.

En général cependant la chronaxie est une fonction croissante de la concentration.

Quant à la rhéobase elle augmente déjà pour les concentrations qui ne modifient pas la valeur de la chronaxie et constitue ainsi un indice plus sensible à l'action du magnésium que cette dernière. Chez les grenouilles d'été l'augmentation de la rhéobase est très difficilement réversible. Les lavages répétés au Ringer qui ramènent la chronaxie sensiblement à la normale ne font baisser que très peu la rhéobase. Chaque bain de magnésium, quelle qu'en soit la concentration, fait monter la rhéobase 1.2 à 2.5 fois par rapport à la valeur qu'elle présentait avant le bain. Ces faits sont nettement visibles à la figure 1, où les courbes des rhéobases s'écartent de plus en plus de leur niveau d'origine.

L'excitabilité indirecte disparaît sous l'influence du bain magnésien. Elle réapparaît à la suite des lavages plus ou moins prolongés suivant la concentration du bain magnésien utilisé. Lorsque les mesures de la chronaxie nerveuse sont possibles, elles n'en révèlent aucune variation (à l'approximation de la méthode près: ces mesures ont été effectuées au moyen d'un chronaximètre gradué en 1/10000 de seconde, la chronaxie du nerf variant généralement de 0.15 à 0.3 milliseconde).

Dans cette série d'expériences on effectuait toutes les mesures parallèlement sur la partie distale et sur la partie proximale du muscle. Les résultats obtenus indiquent une évolution parfaitement parallèle d'excitabilité de deux parties. La figure 1 représente une expérience type de cette série.

Grenouilles d'hiver. Ce qui caractérise en premier lieu le comportement des grenouilles d'hiver vis-a-vis du magnésium, c'est leur sensibilité bien plus grande à l'égard de cet ion. Les concentrations beaucoup plus faibles déterminent ici des chan-

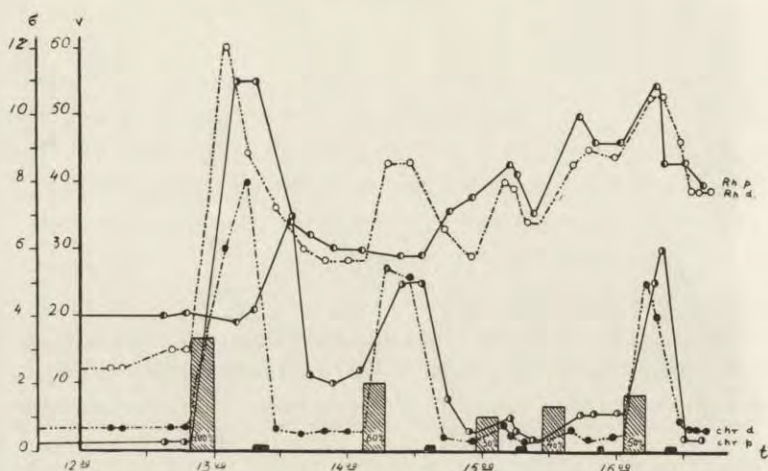


Fig. 1. Exp.-ce Nr. 48. Grenouille d'été. Rhéobases et chronaxies des parties distale (aneurale) et proximale (neurale) du muscle sous l'influence des bains successifs à 100, 60, 30, 40 et 50% de la solution magnésienne.

En ordonnées — les chronaxies en millisecondes et les voltages rhéobasiques en dixièmes de volt; en abscisses — temps en heures. Les rectangles hachurés correspondent aux bains, leur hauteur étant proportionnelle à la concentration de la solution magnésienne. Les rectangles noirs correspondent aux lavages au Ringer.

Rh. p. — courbe des rhéobases de la partie proximale du muscle.

Chr. p. — courbe des chronaxies de la partie proximale du muscle.

Rh. d. — courbe des rhéobases de la partie distale du muscle.

Chr. d. — courbe des chronaxies de la partie distale du muscle.

gements importants d'excitabilité. Ainsi le bain ne contenant que 5% de la solution magnésienne produit déjà une augmentation de la rhéobase et de la chronaxie, tandis qu'il fallait une concentration de 30% pour provoquer un changement analogue chez les grenouilles d'été (comp. les tableaux I et II)¹⁾.

Les variations des rhéobases chez les grenouilles d'hiver ont une tendance bien plus marquée à disparaître sous l'influence des lavages au Ringer qu'elles ne l'avaient dans les expériences de la première série. Toutes ces données ne concernent d'ailleurs que la partie proximale (neurale) du muscle. Quant à la partie distale (aneurale), elle apparaît très modifiée. Dans la plupart de cas la rhéobase et la chronaxie sont dès le début de l'expérience très élevées et présentent sous l'influence

¹⁾ Les sensibilités de différentes préparations vis-à-vis du Mg présentant des variations individuelles assez importantes, les moyennes calculées sur ces tableaux pour chaque concentration n'ont qu'une valeur d'indication d'allure générale du phénomène.

Tableau II.

Grenouilles d'hiver. Muscle long adducteur. Variations des rhéobases et des chronaxies sous l'influence des bains à concentrations diverses de la solution magnésienne. Rhéobases et chronaxies initiales égales à 100.

N de l'exp	Date		CONCENTRATIONS									
			Rhéobases					Chronaxies				
			5%	10%	20%	40%	60%	5%	10%	20%	40%	60%
58	3.III.1937	Partie proximale	—	—	200	279	—	—	—	350	400	—
60	14.III.1937		—	200	182	200	160	—	250	600	2400	2400
62	17.III.1937		180	155	190	151	—	350	470	460	1060	—
63	21.III.1937		160	—	—	—	—	140	—	—	—	—
64	22.III.1937		133	144	200	—	200	104	900	1380	—	2220
Moyennes			155	166	194	210	180	198	540	670	1280	1310

de la solution magnésienne des accroissements irréguliers ce qui est peut être en rapport avec les conditions trophiques de la partie aneurale empirées par le jeûne de plusieurs mois.

L'excitabilité indirecte présente une évolution semblable dans les deux séries d'expériences.



Fig. 2. Exp-ce Nr. 64. Grenouille d'hiver. Rhéobases et chronaxies du nerf et de la partie proximale du muscle sous l'influence de 4 bains à 5, 10, 20 et 60% de la solution magnésienne.

En ordonnées — capacités chronaxiques en μ F et voltages rhéobasiques en demi-volts; en abscisses — temps en heures. Les rectangles hachurés correspondent aux bains, leur hauteur étant proportionnelle à la concentration de la solution magnésienne. Les rectangles noirs correspondent aux lavages au Ringer.

- Rh. p. — courbe des rhéobases de la partie proximale du muscle.
- Ch. p. — courbe des chronaxies de la partie proximale du muscle.
- Rh. n. — courbe des rhéobases du nerf.
- Ch. n. — courbe des chronaxies du nerf.

La figure 2 représente les variations d'excitabilité de la partie proximale du muscle sous l'influence de 4 bains successifs chez grenouille d'hiver. Les rhéobases et les chronaxies du nerf moteur aux moments où l'excitabilité indirecte existait y sont également indiquées.

Conclusions.

Dans une préparation neuro-musculaire de Grenouille la chronaxie du muscle croît avec la concentration du bain en magnésium. Cet accroissement se poursuit au delà de la dose nécessaire pour supprimer la transmission neuro-musculaire. La figure 2 représente les effets de plus en plus forts de 4 bains à concentration croissante dont le second suspendait déjà l'excitabilité indirecte. C'est un fait semblable à celui que signalait L. Lapicque pour le curare. De plus, le comportement absolument semblable des parties neurale et aneurale du muscle (fig. 1) constitue une preuve supplémentaire, de ce qu'on n'a pas affaire dans ce cas à l'apparition brusque d'une excitabilité musculaire propre masquée dans le fonctionnement normal par l'excitabilité plus rapide du nerf.

Nous avons donc ici une substance qui agit incontestablement sur la fibre musculaire, en en augmentant la chronaxie et qui, a une certaine étape de son action, suspend la transmission d'excitation du nerf au muscle. Même avec beaucoup de circonspection dans les conclusions théoriques il est difficile de ne pas voir dans ce fait une preuve à l'appui du rôle que les caractéristiques chronologiques du muscle jouent dans la transmission de l'excitation nerveuse à cet organe.

Bibliographie.

Arvanitaki A. et Cardot H. 1931. Action du magnésium sur l'excitabilité du myocarde ventriculaire de l'Escargot et de la Grenouille. *C. R. Soc. Biol.*, 106 (1024). — Bonvallet M. et Meidinger F. 1935. Étude de l'excitabilité sur une muscle à structure neuromyotique simple. *C. R. Soc. Biol.*, 119 (506). — Desprès M. 1931. Action curarisante du chlorure de magnésium. *C. R. Soc. Biol.* 107 (602). — Dullière W. and Horton H. V. 1929. The reversible loss of excitability in isolated amphibian voluntary muscle. *J. of Physiol.* 67 (152). — Fulton

J. F. 1926. Muscular contraction and reflex control of movement. Williams and Wilkins, Baltimore. — H a z a r d R. et W u r m s e r L. 1931. Action curarisante vraie des sels de magnésium. C. R. Soc. Biol. 107 (453). — H a z a r d R. et W u r m s e r L. 1934. Action des sels de magnésium sur la chronaxie du pied d'Escargot. C. R. Soc. Biol. 116 (281). — L u b i ŋ s k a L. 1933. Essai d'analyse de la „narcose magnésienne”. I. Acta Biol. Exper. 8 (252). — L u b i ŋ s k a L. 1935. Les troubles d'origine périphérique au cours de la narcose magnésienne. Arch. Internat. de Physiol. 41 (456). — M e i d i n g e r F. 1935. Le long adducteur de la Grenouille comme objet favorable à l'étude de l'excitabilité musculaire. C. R. Soc. Biol. 119 (292). — W a c h h o l d e r K. und M a t t h i a s F. 1933. Einfluss veschieden zusammengesetzter Ringerlösung (Sommer- und Winter-Ringer) auf das Kontrakturvermögen von Froschmuskeln. Pflüg. Arch. 232 (159).

[Institut der allg. und physiol. Chemie der Tierärztlichen Fak.
der J. Piłsudski Universität in Warszawa].

Ernst Alexander Sym.

**Hydrolasenwirkung des Blindsackinhaltes des Pferdes
und des Panseninhaltes des Rindes.**

**I. Teil. Einleitung, allgemeine Methoden und proteolytische
Wirkungen ¹⁾.**

Verhältnisse und Vorgänge, die im Blinddarm der Equiden und im Pansen der Wiederkäuer herrschen, werden oft zum Vergleich herangezogen, weil die beiden Organe eine ähnliche Rolle in der Gesamtverdauung dieser Pflanzenfresser spielen. Diese Teile des Verdauungstraktus, in welchen der Inhalt längere Zeit (24 St. und mehr) aufgehalten wird, sind von Mikroorganismen überschwemmt. Man fasst deshalb diese Verdauungsorgane als Gärräume auf, in denen sich gewaltige fermentative, grösstenteils der Verdauung der Tiere zu Nutze kommende Prozesse abspielen.

Die mit verhorntem Pflasterpithel versehene Pansenschleimhaut ist drüsenlos; kann also keine Verdauungssäfte liefern. Der in den Pansen hineinfließende Speichel des Wiederkäuers besitzt höchstwahrscheinlich keine Enzymmengen, welche eine besondere Bedeutung für die Vorgänge in den Vormägen haben könnten. Auf Grund dessen muss man annehmen, dass die Enzyme, die man im Panseninhalt auffindet, nicht vom Tiere stammen, sondern anderer Herkunft sind und zwar können dieselben von Nahrungsmitteln, Bakterien, Pilzen und Infusorien stammen.

¹⁾ Vorgetragen während der Sitzung der Abteilung Warszawa der Polnischen Physiologischen Gesellschaft am 29.V.1938.

Im Inhalt des Pferdeblinddarms befinden sich ausser den Enzymen, die von den Mikroorganismen und Pflanzen stammen, die also desselben Ursprungs sind wie diejenigen des Pansens, auch solche, die das Pferd selbst in seinen Verdauungsdrüsen wie Pankreas und Darmdrüsen produziert und in den Verdauungskanal secerniert. Es ist daher zu vermuten, dass der Blinddarminhalt eine stärkere hydrolatische Wirkung ausüben wird als der des Pansens.

Es wurde bis jetzt die Proteinase-, Amylase- und Lipasewirkung der Inhalte — also die Wirkung der die Verdauung einleitenden Enzyme — untersucht. Die an das Untersuchungsobjekt angepassten Methoden erlaubten alle erwähnte Hydrolasen in beiden Organen nachzuweisen. Im I Teil unserer Arbeit werden erstens im kurzen die Resultate von Versuchen, welche zur Erkennung der Milieueigenschaften der Caecum- und Pansensäfte beitragen, zweitens die Fraktionierungsart sowie die Vorbehandlung der Inhalte und drittens die proteolytische Wirkung derselben, dargestellt. Im zweiten Teil der Arbeit wird das Stärke- und fettspaltende Vermögen der Inhalte beschrieben.

Da der pH-Wert und das Redoxpotential des Reaktionsmilieus einen grossen Einfluss auf die enzymatischen Vorgänge haben, deshalb war es von Bedeutung diese Werte in den untersuchten Säften unter gewissen Versuchsbedingungen zu ermitteln. Aus unseren mit S. Nyr ek ausgeführten noch nicht veröffentlichten Versuchen über den Redoxzustand und die pH-Werte im Caecum- und Panseninhalt folgt, dass man die Milieueigenschaften der Säfte stark ändert, wenn man die Flüssigkeiten mit Luft in Berührung bringt. Erstens wird durch Luftsaauerstoff eine gewaltige Positivierung des Redoxpotentials, zweitens durch Entweichen der Kohlensäure eine Alkalisierung hervorgerufen. Es seien zur Orientierung einige Daten aus unseren Versuchen angeben.

Der flüssige Caecum- und Panseninhalt wurde möglichst unter Luftabschluss aus den Schlachtthieren entnommen und in ein Gefäss unter Paraffin eingeführt. Sofort nach der Entnahme wurde auf elektrometrischen Wege das Redoxpotential ermittelt und die pH-Bestimmung ausgeführt. Bei Rindern fand man im Pansensaft durchschnittlich ein Potential von -160 MV und

ein pH-Wert von 7.09; bei Pferden im Caecumsaft ein Potential von -120 MV und ein pH von 7.17. Bei Durchlüftung des flüssigen Inhaltes stieg das Potential des Pansensaftes durchschnittlich bis $+205$ MV und das pH bis 8.16.

Bei Durchlüftung des flüssigen Caecuminhaltes erhielten wir folgende Werte: Potential = $+215$, pH = 8.22. Für das pH des Panseninhaltes erhielt K n o t h ²⁾ ähnliche Abweichungen und zwar bei Luftabwesenheit 6.98, bei Luftanwesenheit 7.82.

Sowohl nach durchgeführter Reduktion der Säfte mittels Wasserstoff bei Anwesenheit von kolloidalem Palladium als auch ohne vorheriger Reduktion erfuhren die untersuchten Flüssigkeiten beider Tiere in der Stickstoffatmosphäre eine Negativierung des unter Luftabschluss gefundenen ursprünglichen Potentials um zirka 80 bis 120 MV. Aus diesen Angaben und auf Grund von Versuchen mit Redoxfarbstoffen sowie mit oxydativen und reduktiven Titrationsen der Säfte konnte man den Schluss ziehen, dass sich die Redoxsysteme der flüssigen Inhalte hauptsächlich im reduzierten Zustande befinden — dass also in den untersuchten Teilen des Verdauungskanals nahezu anaerobe Verhältnisse herrschen, die von grosser Bedeutung nicht nur für die Entwicklung der Mikroorganismen, sondern auch für die enzymatischen Vorgänge sind. Da man in den hier angegebenen Untersuchungen keine Vorkehrungen getroffen hat um sich vor Luft zu schützen, war das Redoxpotential in den Versuchsflüssigkeiten stets positiver als im natürlichen Zustande. Um diesen Mangel abzuhefen wurden einige Versuche zur Ermittlung des Einflusses des Redoxpotentials auf die untersuchten Hydrolasen ausgeführt. In Fällen wo keine pH-Einstellung durchgeführt wurde war der pH-Wert in der Versuchsflüssigkeit etwas höher als im normalen Zustande.

Die enzymatischen Untersuchungen wurden am Panseninhalt von 26 Rindern und am Caecuminhalt von 18 Pferden gleich nach der Schlachtung unternommen. Die Rinder wurden durch zwei Tage vor der Schlachtung grösstenteils mit Heu und Häcksel gefüttert. In Sommermonaten wurde ihnen auch Gras verabreicht. Die Pferde bekamen einen Tag hindurch vor der

²⁾ Z. Parasitenkunde 1, 262, 1928.

Schlachtung nur Heu. Die Fütterungsweise der Tiere in den vorherigen Tagen war verschieden.

Die Inhalte von Pansen und Caecum wurden in Fraktionen aufgeteilt und dieselben entweder separat oder vermischt auf ihre enzymatische Wirksamkeit untersucht. Der Zweck dieser Aufteilung war einige Anhaltspunkte über den Wirkungsort und über die Herkunft der Enzyme zu erhalten. Es ist schwer eine rationelle Aufteilung der Inhalte experimentell durchzuführen. Eine weitgehende Separierung der verschiedenen organisierten festen Anteile voneinander wie pflanzliche Futterreste, Bakterien und Infusorien ist uns nicht gelungen. Der gröbere feste Inhalt des Caecums und des Pansens, welcher aus Futterresten besteht, dem aber auch Mikroorganismen anhaften, wurde auf Gase von 0.25 mm² grossen Öffnungen oder in zwei Fraktionen: zuerst auf Sieb von 2 mm Maschenweite und dann auf Gase gesammelt. Die groben Futterreste wurden im Leintuch eingewickelt in einer Handpresse ausgepresst. Die durch die Gase durchgeseibte Flüssigkeit wurde als solche oder als Zentrifugat zu den Versuchen angewandt. Gewöhnlich wurde 10 Minuten bei einer Tourenzahl von 4000 zentrifugiert. Je länger die Zeit des Zentrifugierens dauerte, desto kleiner war die hydrolatische Wirksamkeit des Zentrifugats, jedoch war diese Abnahme nach 10 Minuten langem Zentrifugieren verhältnissmässig gering. Im abzentrifugierten Niederschlag befanden sich vor allem kleine Futterreste und von Mikroorganismen besonders die Infusorien. Mikroskopisch erwies man, dass im Zentrifugat grösstenteils sehr kleine Futterteilchen und ausserdem Bakterien anwesend sind. Das Zentrifugat wurde von Futterteilchen und Bakterien mittels Filtrieren durch Chamberlandkerze 5L3 oder durch Kieselerde befreit. Die Filtrate von beiden Tieren waren klare grünlich-braun gefärbte Flüssigkeiten. Ausser den flüssigen Fraktionen — durchgeseibte, zentrifugierte und filtrierte — kamen auch die festen Anteile und Niederschläge zur Untersuchung.

Die in Zentrifugaten der Säfte wirksamen Hydrolasen, die sich grösstenteils in suspendierten Teilchen befinden, kann man mittels Ausfällung durch Zugabe von Aceton im Volumenverhältniss Zentrifugat: Aceton = 1 : 1.4 erhalten. Nach zweistün-

digem Absitzenlassen und nach Dekantierung der klaren Schicht wurde der Niederschlag scharf abzentrifugiert, dann zwei mal mit Aceton ein mal mit Äther gewaschen und getrocknet. Das erhaltene Trockenpräparat erwies bei beiden Inhalten eine starke enzymatische Wirkung. Auch der von kolierten Flüssigkeiten abzentrifugierte mittels Aceton und Äther gewaschene und getrocknete Niederschlag bildet ein sehr wirksames Präparat. Eine wichtige Eigenschaft besitzen diese Trockenpräparate, die die ursprünglichen Niederschläge nur im geringen Masse enthalten, nämlich aus ihnen lassen sich die untersuchten Enzyme mittels Wasser und Pufferlösungen leicht extrahieren.

Zur Anreicherung der Infusorien wurde folgendermassen verfahren. Die durchgeseibte Flüssigkeit wurde während 20 Stunden im Kühlschrank gehalten. Die abgestandene Flüssigkeit wurde sorgfältig vom Niederschlag abgegossen, der Niederschlag mit hundertfacher Menge destillierten Wasser vermischt, in einen breiten Zylinder gebracht und 20 Minuten stehen gelassen. Während dieser Zeit fallen die grösseren Teilchen zu Boden, die Infusorien hingegen bleiben suspendiert. Der Niederschlag des abzentrifugierten oberen Teiles der Suspension ist infusorienreich; besitzt aber noch viele kleine Futterteilchen.

Die Hydrolasenwirkungen trachtete man vor allem mittels der Bestimmung der Substratabnahme und erst an zweiter Stelle mittels Bestimmung der entstandenen Reaktionsprodukte zu ermitteln. Bei der komplizierten Zusammensetzung der untersuchten Systeme können ja die durch Einwirkung der erwähnten Hydrolasen unmittelbar entstandenen Produkte durch anschließende Wirkung anderer Enzyme einem weiterem Zerfall unterliegen wie z. B. durch Wirkung der Peptidasen, Maltase, Desmolasen.

Proteolytische Wirkungen.

Sowohl in allen untersuchten Flüssigkeitsfraktionen und Auszügen als auch in festen Teilen des Caecum- und Panseninhaltes wurden Proteinasewirkungen von verschiedener Grösse beobachtet. Die proteolytische Wirksamkeit des Blinddarminhaltes ist bedeutend stärker als die des Pansens.

Methodik. Als Substrat wurde meistens das nach Hammersten gereinigte und in Natriumhydroxyd gelöste Kasein ausserdem auch Gelatine angewandt. Die Spaltung des Kaseins wurde durch Ermittlung der unveränderten Kaseinmenge mittels Säurefällung verfolgt. Zu diesem Zwecke wurden Stickstoffbestimmungen mittels der Mikromethode nach Kjeldahl (Parnas — Wagner) in den Versuchsflüssigkeiten und in den Filtraten nach Kaseinausfällung ausgeführt. Die Ausfällung wurde am häufigsten mittels 1.5%-iger Essigsäure durchgeführt. Grösstenteils wurden Ansätze bestehend aus 80 bzw. 90 ml der untersuchten Fraktion, 20 bzw. 10 ml einer 5%-igen Kaseinlösung und 1—2 ml Toluol als Desinfiziens angewandt. Untersuchungen über den Einfluss der Kaseinkonzentration auf die Proteinasewirkungen ergaben, dass für die Panseninhalte eine 0.5%-ige, hingegen für die Caecuminhalte eine 1%-ige Kaseinlösungen zweckmässige Substratkonzentrationen bilden. Bei Untersuchung von Fraktionen und Flüssigkeiten, die einen festen abzentrifugierbaren Anteil enthielten, wurde derselbe vor der N-Bestimmung mittels Zentrifugieren beseitigt. Man beobachtete dabei, dass ein Teil der Kaseinmenge an den festen Teilen adsorbiert wird. Die Zentrifugate, Kerzenfiltrate und Wasserauszüge kamen ohne Vorbehandlung zur N-Bestimmung. Da die Zentrifugate und Kerzenfiltrate sowie die Wasserauszüge eine gewisse Menge von stickstoffhaltigen Substanzen enthalten, deshalb musste man immer entsprechende Kontrollversuche mit Flüssigkeiten, zu welchen man statt Kaseinlösung Wasser zugab, ausführen. Zur Orientierung wie gross die angebrachten Korrekturen, die aus Kontrollversuchen erhalten wurden, waren, seien einige Angaben gemacht. 90 ml des Zentrifugats des Pansensaftes enthalten 13 bis 16 mg N, von diesen sind zirka 40% mittels Säure ausfällbar und können auf Faltenfilter aufgehalten werden. 80 ml des Zentrifugats des Blinddarmsaftes enthalten 19 bis 30 mg N, von welchen zirka 30% ausfällbar sind. Kerzenfiltrate und Wasserauszüge enthalten verhältnissmässig kleine N-mengen, die nicht ausfällbar sind.

Der Kaseinstickstoff wurde bei Berücksichtigung der Kontrollversuche auf folgende Weise berechnet: Kasein-N = (Gesamt-N des Hauptversuches — Gesamt-N des Kontrollvers.) —

(N im Filtrat nach Säurefällung im Hauptver. — N im Filtrat nach Säurefällung im Kontrollv.). Diese Art der Korrekturanbringung ist nicht einwandfrei, denn bei der Kaseinanwesenheit können sich unter anderem die Ausfällbarkeiten, welche man im Kontrollv. erhalten hat, geändert haben. Die gespaltene Kaseinmenge kann übrigens direkt aus dem Hauptversuch ermittelt werden — nämlich aus den Differenzen im N-Gehalt in Filtraten nach Säurefällung vor und nach der Reaktion. Die mittels obiger Formel berechnete Stickstoffmenge des gespaltenen Kaseins bezeichnen wir mit Differenz I, — die Differenz in N-Mengen in Filtraten mit Differenz II. Die mittels beider Berechnungsarten erhaltenen Werte stimmen im Allgemeinen überein. Beide Differenzen werden orientierungshalber nur in den ersten zwei Tabellen angeführt, später werden nur Spaltungsgrade in Prozenten (berechnet aus Diff. I und II) als Mittelwerte angegeben. Für die Kerzenfiltrate und Wasserauszüge vereinfacht sich die obige Formel wegen der Nichtausfällbarkeit von N-Substanzen und zwar: $\text{Kasein-N} = \text{Gesamt-N des Hauptv.} - \text{N im Filtrat des Hauptv. nach Säurefällung.}$

Das gewünschte pH wurde mittels HCl-, Essigsäure-, NaOH-Lösungen und Phosphatpuffer eingestellt. Bei Untersuchungen der flüssigen Fraktionen wurde öfters das natürliche aufgefundene pH nicht geändert hingegen wurden die Ansätze mit Trockenpräparaten, Niederschlägen und Auszügen gepuffert und zwar oft mit Phosphatlösungen. Als Desinfiziens eignete sich besonders Toluol. Als Reaktionstemperatur wählte man 38°.

Die proteolytische Wirkung der Bestandteile der Inhalte. Zur Untersuchung der Fraktionenwirkung des Caecuminhaltes wurden folgende Ansätze zusammengestellt: 1) 5 g auf der Gase gesammelte und ausgepresste Futterreste von zirka 20% Wassergehalt + 80 ml kolierte Caecumflüssigkeit + 20 ml 5%-ige Kaseinlösung + 2 ml Toluol, 2) 80 ml kolierte Caecumflüssigkeit + 20 ml 5%-ige Kaseinlösung + 2 ml Toluol, 3) 80 ml Zentrifugat des Blinddarmsaftes + 20 ml Kaseinlösung + 2 ml Toluol, 4) 80 ml Kerzenfiltrat + 20 ml Kaseinlösung + 2 ml Toluol. Die entsprechenden Ansätze mit Pansenfraktionen unterschieden sich nur dadurch von denjenigen des Caecums, dass statt 80 ml der un-

tersuchten flüssigen Fraktion 90 ml und statt 20 ml 5%-iger Kaseinlösung 10 ml zugegeben wurden. In der Tabelle I ist die Proteinasewirkung der Caecum- in der Tabelle II diejenige der Pansenfraktionen angegeben.

Tabelle I.

Proteolytische Wirkung der Fraktionen des Caecuminhaltes.

Die Zusammensetzung der Ansätze ist im Text beschrieben. Das pH der Ansätze 1, 2, 3 = 7.5; des Ansatzes 4 = 7.8. Die Stickstoffmengen sind angegeben in mg pro 100 ml der Ansätze. Kaseinspaltungsgrad in %.

Nr.	Fraktionen mit	Anfang	Nach 3 Stunden				Nach 24 Stunden			
		Kasein-N	Kasein-N	Diff. I	Diff. II	Spalt.grad in %	Kasein-N	Diff. I	Diff. II	Spalt.grad in %
1	Kolat mit groben Inhalt	96	13	83	86	88	— 1	97	101	103
2	Kolat	109	39	70	69	64	— 3	112	102	98
3	Zentrifugat	119	78	41	41	35	10	109	109	92
4	Kerzenfiltrat	117	105	12	13	11	42	75	75	64

Tabelle II.

Proteolytische Wirkung der Pansenfraktionen.

Die Zusammensetzung der Ansätze im Text. pH der Ansätze 1 und 2 = 7.6, des Ansatzes 3 = 7.7, 4 = 7.8. Die N-mengen angegeben in mg pro 100 ml. Kaseinspaltungsgrad in %.

Nr.	Fraktionen mit	Anfang	Nach 3 Stunden				Nach 24 Stunden			
		Kasein-N	Kasein-N	Diff. I	Diff. II	Spalt.grad in %	Kasein-N	Diff. I	Diff. II	Spalt.grad in %
1	Kolat mit groben Inhalt	61	34	27	27	44	11	50	49	81
2	Kolat	66	50	16	17	25	16	49	45	71
3	Zentrifugat	64	53	11	10	16	22	44	41	66
4	Kerzenfiltrat	60	56	4	3	6	47	12	8	17

Aus den Kolonnen beider Tabellen, die den Spaltungsgrad angeben, ersieht man, dass die Kaseinaufspaltung am schnellsten bei Anwesenheit aller Bestandteile, die im Blinddarm bzw. im Pansen anwesend sind, verläuft und dass sich die proteolytische Wirksamkeit der Flüssigkeiten in folgender Reihe vermindert: durchgesiebte Flüssigkeiten, Zentrifugate, Kerzenfiltrate. Aus diesen Versuchen kann man den Schluss ziehen, dass

grössere Mengen der Proteinase sich an festen Bestandteilen anhaften und als solche wirksam sind. Ausserdem bemerkt man, dass die Blinddarmfraktionen bedeutend stärker wirken als die des Pansens; bei zweifach grösserer Kaseinkonzentration ist der Spaltungsgrad des Kaseins viel grösser bei Einwirkung der Pferdefraktionen. Aus den Angaben über den anfänglichen Kasein-N-gehalt ist zu ersehen, dass diese Werte in den Ansätzen 1 und bei Versuchen mit Caecumfraktionen auch in dem Ansatz 2 zu klein ausfallen. Dies stammt davon — wie erwähnt — dass ein Teil der Kaseinmenge mit den festen Teilen der Ansätze abzentrifugiert und so der Bestimmung entzogen wird. Weiter bemerkt man, dass die Differenzen II nur wenig von den I abweichen.

Da man auf Grund dieser Versuche zu dem Schluss kommt, dass die Proteinasewirkung in beiden untersuchten Inhalten vor allem von den festen Anteilen der Verdauungsflüssigkeiten stammt, deshalb untersuchte man die Niederschläge und Futterreste separat in Wasserlösungen ohne Zugabe von Caecum- bzw. Pansenflüssigkeiten. Die proteolytische Wirksamkeit der festen Teile ist in der Tabelle III angegeben.

Tabelle III.

Proteolytische Wirkung der Futterreste und Niederschläge.
Die Zusammensetzung der Ansätze im Text. Kaseinspaltungsgrad in %.

Nr.	Ansätze mit	Der feste Inhalt von:	pH	Spaltungsgrad in %	
				Nach 3 St.	Nach 24 St.
1	groben Futterrückstand	Caecum	7.3	9	72
		Pansen	7.1	60	98
2	Niederschlag vom Kolat	Caecum	7.4	55	98
		Pansen	7.0	14	80
3	Rückstand des Kerzenfiltrates	Caecum	7.0	42	84
		Pansen	7.1	60	97

Die Ansätze für die Caecumanteile bestanden: 1) 5 g ausgepresster, auf Gase gesammelter Futerrückstand (26% H₂O) + 60 ml H₂O + 20 ml 0.15 n Phosphatpuffer von pH = 6.93 + 20 ml 5%-ige Kaseinlösung, 2) 5 g von der kolierten Flüssigkeit abzentrifugierter Niederschlag (zirka 50% H₂O) sonst wie 1), 3) Rückstand des Kerzenfiltrates nach Durchfiltrierung von 100 ml des Zentrifugats — sonst wie 1). Die Ansätze mit festen

Pansenanteilen enthielten 10 ml weniger Kaseinlösung und entsprechend um 10 ml mehr Wasser. Die Kaseinspaltungsgrade nach 3-stündiger Reaktion, die durch die festen Teile hervorgerufen wurde, sind besonders gross bei der Wirkung der groben Futterreste des Pansens, des abzentrifugierten Niederschlages der kolierten Caecumflüssigkeit und der Kerzenrückstände. Auch hier wirkte bei den Bestimmungen etwas störend die Adsorbierbarkeit des Kaseins an die festen Teile. Die Werte der Tabelle III beziehen sich nur zu der verminderten Kaseinmenge die in Lösung verblieb. Der Zerteilungsgrad der festen Bestandteile wird besonders bei Caecuminhalt eine Rolle spielen. (Oberflächenwirkung?).

Trockenpräparate.

Weiter wurden die mit Aceton und Äther getrockneten Präparate auf ihre proteolytische Wirksamkeit untersucht. In der Tabelle IV sind die proteolytischen Wirkungen von vier vom Caecuminhalt erhaltenen Trockenpräparaten und zwar 1) von dem mittels Aceton aus dem Zentrifugat ausgefällten und getrockneten Niederschlag, 2) von dem getrockneten Niederschlag, welcher von der kolierten Flüssigkeit abzentrifugiert wurde, 3) von den mittels Aceton und Äther getrockneten kleinen Futterresten, die ein Sieb von 2 mm Maschenweite passierten und auf der Gase aufgehallen wurden, 4) von mittels Aceton und Äther getrockneten groben Futterresten, die auf dem erwähnten Sieb zurückblieben, dargestellt.

Tabelle IV.

Kaseinspaltung mittels Trockenpräparaten.

Zusammensetzung der Ansätze: 1.5 g Trockenpräparat aus Caecuminhalt, 59 ml H₂O, 15 ml 5%-iger Kaseinlösung, 1 ml ln NaOH und 1 ml Toluol, pH = 9.0.

Nr.	Präparate	Spaltungsgrad des Kaseins in %	
		nach 3 Stunden	nach 24 Stunden
1	Vom Zentrifugat ausgefällter Niederschlag.	100	—
2	Vom Kolat abzentrifugierter Niederschlag.	59	93
3	Kleine Futterreste.	43	95
4	Grobe Futterreste.	16	82

Analog angestellte Versuche mit Trockenpräparaten, die vom Panseninhalt erhalten wurden, ergaben dieselbe Abstufung der Wirksamkeiten der Präparate jedoch war die Stärke der Wirkung im Allgemeinen kleiner. Die dazu angewandten Ansätze bestanden aus 1.5 g Trockenpräparat, 45 ml Wasser, 15 ml 0.15 n Phosphatlösung von pH = 7.73; 10 ml 5%-iger Kaseinlösung und 1 ml Toluol.

Die mit Trockenpräparaten erhaltenen Resultate bestätigen und erweitern die Ergebnisse, die mit Fraktionen der Inhalte und mit Niederschlägen erhalten wurden, — es wird nämlich bestätigt, dass die Proteinasewirkung der Inhalte besonders den suspendierten und festen Teilen zuzuschreiben ist. Ausserdem wird erwiesen, dass je grösser der Zerteilungsgrad der festen Anteile der Inhalte ist desto stärker ist ihre enzymatische Wirksamkeit.

In einigen Fällen konstatiertes Anwachsen der Gesamtstickstoffmenge nach 24-stündiger Reaktionsdauer wird wahrscheinlich mit der Spaltung und Auflösung der Präparateiweise im Zusammenhang stehen.

Wasserauszüge aus Trockenpräparaten. Wie erwähnt lassen sich die proteolytischen Enzyme aus den Trockenpräparaten leicht extrahieren. Es sei ein Versuch, der die Extrahierbarkeit der Proteinase aus dem Trockenpräparat darstellt, beschrieben.

Tabelle V.

Proteolytische Wirkung des Wasserauszeuges vom Trockenpräparat des Caecuminhaltes. Ansätze im Text beschrieben.

Nr.	Wirkung des:	Prozente der gespaltenen Kaseinmenge	
		nach 3 Stunden	nach 24 Stunden
1	durch Filterpapier filtrierten Wasserauszeuges	43	89
2	durch Kerze filtrierten Wasserauszeuges	42	91
3	Rückstandes des extrahierten Trockenpräparats	14	75
4	nichtextrahierten Trockenpräparats .	64	95

Zur Extraktion wurden 6 g des getrockneten von der kochierten Caecumflüssigkeit abzentrifugierten Niederschlages im

Mörser mit 90 ml H_2O und 30 ml einer 0.15 n Na_2HPO_4 — Lösung zerrieben, dann die Mischung in Kolben gebracht, geschüttelt und in den Thermostaten bei 38° auf eine Stunde gestellt. Nachher wurden die festen Bestandteile abzentrifugiert und das erhaltene Zentrifugat durch Filterpapier filtriert. Vom trüben Filtrat wurden 40 ml zum Ansatz 1 gebraucht; der Rest des Filtrates wurde durch Chamberlandkerze filtriert. 40 ml des klaren Kerzenfiltrates wurden zur Herstellung des Ansatzes 2 verwendet. Die Ansätze 1 und 2 bestanden aus: 40 ml Filtrat, 10 ml 5%-iger Kaseinlösung und 1 ml Toluol. Der Ansatz 3 bestand aus dem dritten Teil der Menge des extrahierten und abzentrifugierten Präparatrückstandes—diese Menge entspricht 2 g des ursprünglichen Trockenpräparates —, weiter aus 27.5 ml H_2O , 12.5 ml 0.15 n Na_2HPO_4 , 10 ml Kaseinlösung und 1 ml Toluol. Zum Ansatz 4 wendete man 2 g nichtextrahiertes Trockenpräparat und alle Lösungen wie im Ansatz 3 an. Aus der Tabelle V kann man entnehmen, dass zirka 70% der Proteinasewirkung extrahierbar ist. Die Extrahierbarkeit bei Pansenpräparaten ist nicht so gross. Versuche mit Wasserextrakten sind im Gange. Einen bedeutend kleineren Teil der proteolytischen Enzyme konnte man auch aus den Niederschlägen und Futterresten, die nicht mit Aceton und Äther vorbehandelt waren, extrahieren.

Die optimalen pH der proteolytischen Wirkungen. Eines der wichtigsten Unterscheidungsmerkmalen der verschiedenen Proteinase ist ihr pH-Optimum. Deshalb wurden besonders viele Versuche mit verschiedenen Ansätzen ausgeführt, um dieses pH für die Caecum- und Pansenflüssigkeiten und -Präparaten aufzufinden. Die pH-Werte wurden mittels Zugabe von NaOH-, HCl- und Phosphatpufferlösungen eingestellt. Die pH-Bestimmungen wurden potentiometrisch mittels Wasserstoff- und Chinhydronelektrode ausgeführt. Die vom Neutralpunkt weiter entfernte pH-Werte unterlagen während der Reaktion einer Verschiebung in der Richtung zum Neutralpunkt. Dies wurde besonders bei Ansätzen mit festen Anteilen und bei basischen pH beobachtet. Es wurden Mittelwerte berücksichtigt. Die angegebenen pH-Optima

beziehen sich auf Kaseinspaltung. Das optimale pH des Zentrifugates der Caecumflüssigkeit bei einer Reaktionsdauer von 3 St. lag in den Grenzen 8.6 — 9.9, des Kerzenfiltrates zwischen 8.7 — 10.0 (Reaktionsdauer 24 St.), des Trockenpräparates (von Kolat abzentrifugierter und mittels Aceton und Äther getrockneter Niederschlag) zwischen 7.9 und 9.5 (Reaktionsdauer 3 St.), des Wasserausuges aus dem Trockenpräparat zwischen 8.0 — 9.5 (Reaktionsdauer 3 St.).

Also das optimale pH der proteolytischen Wirkung der vom Caecuminhalt stammenden verschiedenen Flüssigkeiten und dasjenige des Trockenpräparates liegt im alkalischen Bereiche und zwar, wenn man den für alle untersuchten Fälle gültigen pH-Bereich in Betracht zieht, zwischen 8.7 und 9.5. Dieser optimale Bereich spricht für eine Trypsinwirkung. In allen untersuchten Ansätzen verlief die enzymatische Reaktion noch bei $\text{pH} = 6.2$ und $= 11.4$, jedoch bedeutend verlangsamt. Die pH-Werte des Caecuminhaltes liegen bei Luftabwesenheit bedeutend niedriger (durchschnittliches $\text{pH} = 7.17$) von denjenigen, bei welchen die maximale proteolytische Wirkung dieses Inhaltes zum Ausdruck kommt. Da aber die Stabilität des Trypsins bei niederen pH grösser ist, so sind die Verhältnisse im Caecum teilweise auch fördernd für dieses Enzym.

Die proteolytische Wirkung des Panseninhaltes äussert ein anderes pH-Optimum, welches den pH-Verhältnissen, die im Pansen obwalten, angepasst ist. Nämlich das pH-Optimum des Kolates und Zentrifugates der Pansenflüssigkeit liegt in der Umgebung von 7.3, wobei das pH des Panseninhaltes bei Luftabwesenheit durchschnittlich 7.09 ausmacht.

Im Gegensatz zu Caecumflüssigkeiten weisen die des Pansens bei $\text{pH} 9.2$ eine sehr schwache, hingegen bei $\text{pH} = 6.3$ eine sehr starke proteolytische Wirkung auf — natürlich im Verhältniss zur maximalen Wirkung beim optimalen pH. Dieses optimale pH spricht für ein proteolytisches Enzym bakterieller Herkunft. Es ist aber auch möglich, dass Infusorien zur proteolytischen Wirksamkeit des Inhaltes beitragen.

Die Art der Kaseinaufspaltung. Um die Wirkungsart der Enzyme zu ermitteln wurde die Stickstoffver-

teilung auf Kasein (mittels Säureausfällung und Mikrokjeldhal), auf Aminogruppen (nach van Slyke), Ammoniumstickstoff (nach Folin) und Melanin (nach Mikrokjeldhal) in den Versuchsflüssigkeiten, in den Filtraten nach Kaseinausfällung und in den Hydrolysaten sowohl der Versuchsflüssigkeiten als auch der Filtrate bestimmt. Die Bestimmungen wurden sofort nach der Herstellung der Ansätze und zum zweiten male nach 24-stündiger Reaktionsdauer ausgeführt. Man hydrolisierte die in Vakuum eingeeengten Flüssigkeiten mittels 18%-iger Salzsäure durch 48 Stunden. Ein Kontrollversuch, in welchem zum Ansatz statt Kaseinlösung Wasser zugegeben wurde, diente zur Auffindung entsprechender Korrekturen, die an die Resultate des Hauptversuches angebracht wurden. In der Tabelle VI sind die Zusammensetzung des Ansatzes und die Versuchsergebnisse, welche mittels des Zentrifugates des des Pansensaftes erhalten wurden, angegeben.

Tabelle VI.

Die Art der Kaseinspaltung durch die Pansenproteinase.

Stickstoffverteilung in der Versuchsflüssigkeit, in den Filtraten nach der Kaseinausfällung und in den Hydrolysaten in mg pro 1000 ml des Ansatzes. Zusammensetzung des Ansatzes: 900 ml Zentrifugates der Pansenflüssigkeit, 100 ml 5%-iger Kaseinlösung, 15 ml Toluol. pH = 7.1. Temperatur: 38°. Reaktionsdauer 24 St.

	Am Anfang der Reaktion:					Nach 24-stündiger Reaktionsdauer:				
	Gesamt-N	Kasein-N	NH ₃ -N	NH ₃ -N	Melanin-N	Gesamt-N	Kasein-N	NH ₃ -N	NH ₃ -N	Melanin-N
In der Versuchsflüssigkeit	783	639	57	39	—	763	255	148	57	—
Im Hydrolysat der Versuchsflüssig. . .	698	—	533	112	91	759	—	517	138	39
Im nichthydrolisierten Filtrat	144	—	22	29	—	508	—	128	48	—
Im hydrolisierten Filtrat	84	—	32	30	nicht untersucht	444	—	316	75	19

Aus den Daten der Tabelle kann man folgendes entnehmen:

- 1) Aus der Abnahme des Kaseinstickstoffes berechnet, wurden 60% von Kasein abgebaut — was der Differenz I der Tabelle I entspricht. Differenz II gibt einen diesbezüglichen Wert von 57%.
- 2) Im nichthydrolisierten Filtrat wuchs die Stickstoff-

menge der Aminogruppen um 106 mg an, im hydrolysierten Filtrat aber um 284 mg. Daraus folgt, wenn man den Melaninstickstoff nicht berücksichtigt, dass 37% der Aminogruppen des abgebauten Kaseins sich in freier Form befinden. Wegen Nichtberücksichtigung des Melaninstickstoffes wird dieser Wert zu hoch ausfallen. Man kann aber diese Aminogruppenmenge auch anders berechnen. Nämlich aus der Differenz II (364 mg) und aus der Vergrößerung der NH_2 -Stickstoffmenge in der Versuchsflüssigkeit (91 mg). Daraus bekommt man einen Wert von 25%. Aber da der Kasein-N nicht nur den Aminogruppen zuzuschreiben ist, wird dieser Prozent zu klein sein. Jedenfalls aus dieser N-Verteilung ist zu ersehen, dass der grössere Teil der Aminogruppen nach der Reaktion sich noch in der Peptidbindung befindet. 3) Die Menge des NH_3 -Stickstoffes wächst während der Reaktion in allen untersuchten Flüssigkeiten. Die im nichthydrolysierten Filtrat nach der Kaseinausfällung sich befindenden Reaktionsprodukte sind mittels Sulfosalizylsäure und Trichloressigsäure nicht ausfällbar, wohl aber durch Zugabe von Tannin und Phosphorwolframsäure. Das Filtrat gibt eine deutliche Biurettreaktion.

Ein analoger Versuch wurde mit dem Zentrifugat der Caecumflüssigkeit ausgeführt mit dem Unterschied, dass statt 0.5%-ige Kaseinlösung eine 1%-ige angewandt wurde. $\text{pH} = 7.6$. Der Spaltungsgrad des Kaseins betrug hier nach eintägiger Reaktionsdauer 77%. 39% der Aminogruppen der abgebauten Kaseinmenge befanden sich in freier, nach van Slyke bestimmbarer, Form. (Erste Art der vorigen Berechnung). Das Filtrat gibt eine positive Biurettreaktion. Die Ausfällbarkeiten der Reaktionsprodukte sind dieselben wie die der vorigen. Es ist möglich, dass anschliessend an die Proteinasewirkung diejenige der Peptidasen folgt. Jedoch spricht der gefundene Spaltungsgrad der Peptidbindungen für ein nicht besonders starkes Eingreifen der Peptidasen. Dies gilt sowohl für die Pansen- als auch für die Caecumflüssigkeit. Es unterliegt keinem Zweifel, dass diese beiden Flüssigkeiten fähig sind Eiweiss bedeutend zu verdauen. Im Pansen wird dies eine Art von Vorverdauung sein, vor der eigentlichen, die sich im Magen und Dünndarm abspielt. Die starke proteolytische Wirkung des Caecumsaftes spricht da-

für, dass im Caecum noch eine weitreichende Eiweissverdauung im Spiele ist, die im Dünndarm keineswegs beendet ist. Die Anwesenheit eines proteolytischen Enzyms in der Caecumflüssigkeit wurde von Scheunert³⁾ auf Grund seiner Beobachtung der Einwirkung des Caecumfiltrates auf Fibrin und koaguliertes Hühnereiweiss bewiesen. Von denselben Autor stammt auch die wichtige Feststellung, dass die Caecumschleimhaut und die Caecaldrüsen des Pferdes kein proteolytisches Enzym produzieren. Nach unseren Versuchen, wird die Proteinasewirkung von dem in das Caecum mit den Dünndarmsäften übergegangenen Trypsin stammen.

Einfluss des Redoxpotentials auf die proteolytische Wirkung der Säfte. Zur Untersuchung dieses Einflusses wurde durch einen Teil der Kolate sowie durch die für dieselben bestimmte Kaseinlösung gereinigter Stickstoff, hingegen durch einen anderen Teil beider Flüssigkeiten Luft 4 Stunden lang hindurchgelassen. Die Potentiale der mit Stickstoff und Luft behandelten Kolate differierten voneinander um über 210 MV, wobei ihre pH-Werte keine grosse Abweichungen aufwiesen. Ein Teil der Säfte wurde aus den Verdauungsorganen unter Luftabschluss direkt herausgenommen und unter Paraffin gehalten. In der Tabelle VII sind die Ver-

Tabelle VII.

Einfluss des Redoxpotentials auf die proteolytische Wirkung des Caecum- und Pansensafts. Ansätze 1 und 2: 80 bzw. 90 ml gasbehandelter Kolate, 20 bzw. 10 ml 5%-iger Kaseinlösung, 1 ml Toluol. Ansätze 3: 80 bzw. 90 ml unter Luftabschluss entnommener Säfte, 20 bzw. 10 ml 5% Kaseinlösung, 1 ml Toluol. Kaseinkonz. in Caecumansätzen 1%, in Pansenansätzen 0.5%.

Saft.	Vorbehandlung	Redoxpot.	pH	Spaltungsgrad des Kaseins in %	
				nach 3 St.	nach 24 St.
Caecum	1 mit Luft	+202	8.1	67	93
	2 mit Stickstoff	- 25	8.3	45	86
	3 unter Luftabschluss entnommen	-200	7.5	39	79
Pansen	1 mit Luft	+208	8.0	42	—
	2 mit Stickstoff	- 3	8.3	39	80
	3 unter Luftabschluss entnommen	-108	7.4	37	—

³⁾ Zeit. für Physiol. Ch. 48, 9, 1906.

suchtsresultate zusammengestellt, die mit Flüssigkeiten, welche verschiedene Redoxpotentiale aufwiesen, erhalten wurden.

Der Einfluss des Redoxpotentials der gasbehandelten Caecumkolate auf ihre proteolytische Wirkung ist ersichtlich — hingegen ist kein besonderes Einwirken des Potentials auf diese Wirkung der Pansenkolate zu verzeichnen. Höheres Potential im Caecumsaft ruft eine stärkere Proteinasewirkung hervor. Die mit Flüssigkeiten, welche nicht mit Gasen behandelt wurden, erhaltenen Resultate, kann man eigentlich nicht mit den Ergebnissen, die mit gasbehandelten Kolaten erhalten wurden, vergleichen. Ertens weil die entnommenen Säfte im ersten Falle nicht koliiert wurden und zweitens weil die pH-Werte der Säfte niedriger sind.

Die im Caecum herrschende anaerobe Verhältnisse werden wahrscheinlich für die Proteolyse ungünstig sein. Wie schon bemerkt wurde, ist auch das pH des Caecuminhaltes für die proteolytische Wirkung nicht optimal.

Inaktivierungen. Ein 10 Minuten langes Kochen der Caecum-, resp. Pansenkolate ruft eine Vernichtung der proteolytischen Eigenschaften der Säfte hervor. Eine 0.4%-ige Formaldehydlösung in den Versuchsflüssigkeiten sistiert vollkommen die Enzymwirkung in beiden Säften. Von den in den enzymatischen Untersuchungen gebrauchten Desinfiziens wirken Thymol und Chloroform teilweise inaktivierend auf die Proteolyse mittels beider Säfte, hingegen Toluol ist ohne Einfluss. Es wurde mehrmals konstatiert, dass ein längeres Aufbewahren des Pansenkolates im Kühlschrank auf die proteolytische Wirksamkeit desselben einen inaktivierenden Einfluss hat. Z. B. in einem Falle war die anfängliche Aktivität nach 11 Tagen der Aufbewahrung um die Hälfte herabgesetzt. Die mittels Tanin von den Säftezentrifugaten erhaltenen Niederschläge waren im Gegensatz zu denjenigen, die mittels Aceton erhalten wurden, proteolytisch nur schwach wirksam.

Verschiedene Beobachtungen. Der infusoreinreiche Niederschlag, der vom Panseninhalt nach der beschriebenen Methode erhalten wurde, ist proteolytisch sehr wirk-

sam. Zum Zentrifugat des Caecumsaftes zugegebene Enterokinase, die vom Schweine- und Pferdedünndarm erhalten wurde, war ohne Wirkung. Wahrscheinlich ist das vermutete Trypsin in seiner ganzen Menge im Blinddarminhalt in aktivierter Form anwesend. Zwecks Auffindung einer Papainasewirkung in Darm- bzw. Panseninhalten wurden Untersuchungen nach der Methode von Grassmann⁴⁾ mit Zentrifugaten und Trockenpulver angestellt. Die Versuche mit Caecumpräparaten fielen positiv aus, hingegen diejenige mit Panseninhalt negativ. Während der Säurefällung des Kaseins aus den Versuchsflüssigkeiten werden die Proteinase mitgerissen. Mit der Auflösung des so ausgefällten Kaseins durch Alkalizugabe befreit sich auch die Proteinase, deren Tätigkeit bei entsprechendem pH zur vollen Auswirkung kommen kann. Dies gilt sowohl für das Zentrifugat der Pansenflüssigkeit als auch für dasjenige des Caecumsaftes. Einengung des Kerzenfiltrates des Caecalsaftes im Vakuum bei 38° hat eine Steigerung der proteolytischen Wirksamkeit desselben zur Folge, welche dem Einengungsgrade proportional ist. Einengung des Pansenkerzenfiltrates verursachte eine Verminderung der Aktivität. Einer ziemlich weitgehenden Verdauung unterliegt das Fleischknochenmehl, wenn man dasselbe der Einwirkung des Caecalsaftes unterwirft. Die Aufspaltung des Mehls wurde mittels Verfolgung des Anwachsens der Aminogruppen (nach van Slyke) ermittelt.

Zusammenfassung.

1°. Es wurden verschiedene flüssige Fraktionen des Caecum- und Pansensaftes wie Kolate, Zentrifugate und Kerzenfiltrate sowie die festen Bestandteile der Säfte wie Futterreste und Niederschläge auf ihr Aufspaltungsvermögen des Kaseins untersucht. Ausserdem kamen zur Untersuchung die mittels Aceton und Äther getrockneten festen Bestandteile und Wasserauszüge. In allen Fällen wurden Proteinasewirkungen jedoch von verschiedener Grösse konstatiert. Die Kerzenfiltrate haben verhältnismässig eine kleine Wirkung. Die proteolytischen Enzyme haften hauptsächlich an festen und besonders kleinen Teilen

⁴⁾ Bertho-Grassmann. Biochemisches Praktikum. 1936, S. 112.

des Blinddarm- und Panseninhaltes wie an kleinen Futterresten höchstwahrscheinlich auch an Mikroorganismen und sind als solche wirksam. Die Trockenpräparate, welche aus Niederschlägen erhalten wurden, und die aus ihnen erhaltenen Wasser-auszüge, sind sehr aktiv. Aus den Trockenpräparaten sind die Proteinase durch Wasserextraktion leicht in Lösung zu bringen.

2°. Die Zentrifugate der beiden untersuchten Säfte, die sehr kleine Futterreste und Bakterien enthalten, sind zu einer weitgehenden Spaltung des Kaseins fähig. Annähernd ein Drittel der Peptidbindungen werden während einer 24-stündigen Reaktionsdauer gespalten (Kaseinkonz. = 0.5% bei Pansen- und 1% bei Caecumsaftwirkung).

3°. Auf Grund des optimalen pH der proteolytischen Wirkung der Caecumflüssigkeiten und Präparate, welches in den Grenzen 8.7 und 9.5 liegt, kann man schliessen, dass diese Wirkung vor allem dem Trypsin zuzuschreiben ist. Also diese Proteinase wird hauptsächlich in adsorbierter Form aktiv sein. Da das pH des Caecuminhaltes in situ bedeutend niedriger ist (7.17), muss man annehmen, dass im Blinddarm die pH-Verhältnisse für diese Proteinasewirkung nicht optimal sind.

4°. Das pH-Optimum der Proteinase der Pansenflüssigkeit liegt in der Nähe des neutralen Punktes, nämlich bei 7.3. Dies spricht für eine bakterielle Herkunft des Enzyms.

5°. Die Milieueigenschaften des Caecum- und Pansensaftes ändern sich, wenn man die Säfte mit Luft in Berührung bringt. Erstens wird durch Luftsauerstoff eine gewaltige Positivierung des Redoxpotentials und zweitens durch Entweichen der Kohlensäure eine Alkalisierung hervorgerufen. Vorläufige Untersuchungen über den Einfluss des Redoxpotentials auf die Proteinase ergaben, dass höhere Potentiale auf die Proteolyse mittels Caecumsaftes günstig wirken, hingegen auf die Pansenproteinase ohne besonderer Einwirkung sind. Es scheint als ob die anaeroben Verhältnisse, die man in Caecum konstatiert, für die Proteinasewirkung nicht fördernd sind.

Dem Ackerbauministerium: Ministerstwo Rolnictwa i Reform Rolnych, spreche ich meinen innigsten Dank für die bereitwillige Hilfe, die mir während der Ausführung dieser Arbeit zu Teil wurde, aus.

Sommaire du fascicule 2, volume XII.

Nr.Nr.	pp.
18. J. Heller. <i>Über den Einfluss der Temperatur auf die Ernährung, Gasaustausch und Wachstum der Raupen von Deilephila Euphorbiae (Untersuchungen über die Metamorphose der Insekten, XII)</i>	99
19. N. Berend. <i>Über den Zusammenhang zwischen der Sekretionsgeschwindigkeit und der Zusammensetzung des Darmsaftes</i>	117
20. J. Walawski und Br. Zawadzki. <i>Vorversuche zur Unterscheidung der Reizung und des Tonus des Vagus im Zusammenhang mit der Theorie der chemischen Übertragung von Nervenimpulsen</i>	119
21. T. Baranowski. <i>Untersuchungen über die phosphatübertragenden Enzyme im Muskelextrakt</i>	122
22. R. Natolski. <i>L'influence de l'acide lactique et de ses sels sur la pression arterielle</i>	126
23. A. Szwabowicz. <i>The influence of the concentration of alcohol upon temperature, pulsrate and respiration at rabbits and dogs</i>	130
24. J. Fegler, H. Kowarzyk und Z. Lelusz-Lachowicz. <i>Über den Aetylcholin - Gehalt des zentralen Nervensystems bei den Erregungszuständen nach Strychnin- und Tetanustoxin - Einführung</i>	139
25. J. V. Supniewski und M. Serafin-Gajewska. <i>Über die pharmakologischen Eigenschaften des Cysteamins und des Merkaptothiazolins</i>	142
26. J. Szulc. <i>Méthode d'angiostomie appliquée aux recherches sur l'absorption des sels du calcium par voie digestive</i>	155
27. Z. Bieliński. <i>Einfluss der Gase bei ihrer direkten Durchleitung durch den Carotissinus</i>	165
28. M. Wierzuchowski and Z. Borkowski. <i>Differentiation of the forms of glucose intoxication</i>	168
29. H. Steinhaus und M. Wierzuchowski. <i>Diabetische Grenze der Glykoseverbrennungsfähigkeit beim normalen Wirbeltierorganismus im Ruhezustand. Versuch einer mathematischen Formulierung</i>	174
30. W. Niemierko. <i>Über eine Methode zur Bestimmung sehr kleiner Zuckermengen</i>	178
31. L. Lubińska et H. Rosenberg. <i>Influence de la concentration des sels magnésiens sur le muscle de Grenouille</i>	183
32. E. A. Sym. <i>Hydrolasenwirkung des Blindsackinhaltes des Pferdes und des Panseninhaltes des Rindes. I. Teil. Einleitung, allgemeine Methoden und proteolytische Wirkungen</i>	192