



Zur physiologischen und pathologischen Chemie des Auges.

INAUGURAL-DISSERTATION

der

medizinischen Fakultät

der

KAISER-WILHELMS-UNIVERSITÄT STRASSBURG

zur Erlangung der Doctorwürde

vorgelegt von

ARNOLD CAHN aus Worms.
appr. Arzt.



STRASSBURG,
bei **KARL J. TRÜBNER**
1881.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Fakultät
der Universität Strassburg.

Referent: **Prof. Dr. Hoppe-Seyler.**

A. Retina.

So reich die Literatur bezüglich der histologischen Structur der Retina ist, so spärlich fliessen die Berichte betreffs der chemischen Beschaffenheit derselben; dieser Mangel machte sich besonders in der letzten Zeit geltend, in der so interessante Arbeiten über physiologische Vorgänge in diesem Organ erschienen. Man hat sich bisher immer begnügt, aus der morphologischen und ontogenetischen Verwandtschaft mit der grauen Hirnsubstanz auch auf chemische Identität zu schliessen¹⁾; mit welchem Recht, sollten meine Analysen lehren.

Seitdem Blessig²⁾ vor 25 Jahren die bezüglichen Befunde Schmidt's mitgetheilt hat, ist eine derartige Untersuchung nicht mehr vorgenommen worden, und die zerstreuten microchemischen Reactionen können kein einheitliches Bild geben. Schmidt erhielt aus dem Alcoholextract mit Platinchlorid einen crystallinischen Niederschlag, wahrscheinlich von Neurinplatinchlorid, der sich unter Trimethylamingeruch zersetzte, und dann zwei Eiweiss ähnliche Körper, die trotz der sehr genau angegebenen Reactionen auch heute noch nicht genauer zu definiren sind. — Da inzwischen die Kenntnisse über die Bestandtheile der nervösen Gewebe sich erweitert haben, schien es an der Zeit, auch die Netzhaut einer erneuten Bearbeitung zu unterwerfen, um wenigstens etwas von dem Substrat der Vorgänge zu erfahren, die in den jüngst vergangenen Jahren so lebhaftes Interesse erregten.

Zu meinen Untersuchungen bediente ich mich vorwiegend der Retina des Ochsenauges; zu einem bestimmten Zweck diente mir die gefässlose des Pferdes, die jener gegen-

¹⁾ Vergl. Kühne im Handbuch der Physiologie, herausgeg. von Hermann Bd. III, S. 240.

²⁾ De retinae textura disquisitiones microscopicae diss. inaug., Dorpati 1855, S. 67 ff.

über den grossen Nachtheil hat, dass sie sich nur äusserst schwer und in Fetzen vom Glaskörper trennen lässt; zum Vergleich mit beiden analysirte ich die viel derbere Schweine-netzhaut.

Gewöhnlich verfuhr ich so, dass ich durch einen Stich ohne Verletzung der Linse die vordere Kammer ihres Inhalts entleerte, Cornea, Iris und Linse entfernte, mit der Scheere zwei meridionale Einschnitte durch alle drei Häute des hintern Bulbustheils führte, denselben umstülpte, wobei der Glaskörper in toto herausfiel und die Retina, nachdem ich durch Streichen mit dem Scalpellstiel das Blut möglichst aus den sichtbaren Gefässen entfernt, mit der Pincette herauszog.

Die so gewonnenen Netzhäute, die immer von am selben Morgen geschlachteten Thieren stammten und einige Male schon nach einer halben Stunde untersucht werden konnten, reagirten gewöhnlich, insbesondere im Sommer, deutlich alcalisch; im Winter dagegen, wo es mir auch möglich war, frischere zu prüfen, fand ich die Reaction auf der Stäbchen-Zapfenseite, wo keine Benetzung mit Glaskörper zu fürchten ist, recht deutlich sauer. Ghodin¹⁾ fand die Netzhäute frisch getödteter Thiere, wenn sie von humor vitreus gut gereinigt waren, regelmässig sauer. Durch langen Dunkel-aufenthalt vor dem Schlachten ging die Reaction in eine neutrale oder schwach alcalische über. Beim Liegen der Augen geht die saure Reaction allmählig in eine alcalische über, rascher wenn dieselben dabei im Dunkeln gehalten werden, als wenn man sie dem Lichte aussetzt. Kühne²⁾ fand bei Froschnetzhäuten immer alcalische Reaction.

Die Untersuchung sowohl der zur Bestimmung des Wassergehaltes unter der Luftpumpe über $\text{SO}_4 \text{H}_2$ getrockneten wie der frischen Retinen geschah im Ganzen nach dem von Prof. Hoppe-Seyler angegebenen Verfahren zur «Bestimmung der Albuminstoffe, Extractivstoffe, Fette und Salze im Blutserum und andern serösen Flüssigkeiten»³⁾. Nur wurde

¹⁾ Ueber die chemische Reaction der Netzhaut u. des Sehnerven, Sitzgsb. d. Wien. Acad. vom 19. Juli 1877, S. 121.

²⁾ L. c., S. 240.

³⁾ Handbuch der physiol. u. pathol. Analyse, IV. Aufl., S. 373.

die besondere Vorsicht gebraucht, den alcoholischen Auszug unter Ueberleiten eines warmen trockenen Luftstroms bei recht mässiger Temperatur zu trocknen; es entwich dabei mit den Alcoholdämpfen eine flüchtige Säure; ob sie prae-existirte oder erst beim Trocknen sich bildete, weiss ich nicht. Die mit heissem Alcohol und warmem Wasser erschöpften Netzhäute wurden dann mit etwas H_2O in zugeschmolzenen Glasröhren 16–24 Stunden im Oelbade auf $120^\circ C.$ erhitzt. Hier die gefundenen Zahlen; zum Vergleich setze ich die von Petrowsky ¹⁾ für die graue Hirnrinde gegebenen hinzu.

	Retina vom Ochsen.				Schwein	Pferd.	Graue Hirnsubstanz.
Wasser.	86,52	—	87,61	—	88,01	89,99	81,60
Albuminstoffe . . .	6,77	} 8,45	} 7,22	} 7,02	6,33	4,35	} 10,19
Eiweissähnl. Stoffe.	1,59				1,75	1,86	
Alcoholextract . . .	0,25	0,21	0,59	0,69	0,14	0,29	} 1,23
Wasserextract . . .	0,42	0,66	0,43	0,38	1,39	0,38	
Cholesterin	0,77	0,65	0,65	0,67	0,27	} 2,39	} 3,54
Fett	0,47	0,32	?	?	0,05		
Lecithin	2,08	2,48	2,35	2,89	0,95	} 1,11	} 3,17
Lösliche Salze . . .	0,93	0,74	0,90	0,67	0,97		
Unlösliche Salze . .	0,02	0,08	0,03	0,27	0,09	0,01	} 0,27
Cerebrin	Spuren				—	—	
							0,098 %

Die beiden ersten Analysen sind mit unter der Luftpumpe getrockneten, die zwei weitem mit frischen Netzhäuten vorgenommen, der Wassergehalt in diesem Falle aus der Differenz der Summe der festen Bestandtheile vom Anfangsgewicht berechnet. Offenbar eignen sich die letzteren viel besser, da die Retinen im Vacuum zu einer schwer pulverisirbaren, hornigen Masse eintrocknen und was wichtiger ist, weil dabei ausserdem etwas Lecithin sich zu zersetzen scheint, sodass der Pt-Gehalt des Aetherextracts etwas zu nieder ausfällt.

Was an den angegebenen Zahlen zunächst auffällt, ist der hohe Gehalt an Lecithin, der kaum geringer ist, als in der grauen Gehirnrinde. Berechnet ist er aus dem Pt-Gehalte des Aetherextracts. Uebrigens kann man leicht

¹⁾ Zusammensetzung der grauen und der weissen Substanz des Gehirns. Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. VII, S. 367.

Lecithin in hinreichend genügender Menge durch kalten Alcohol aus den Netzhäuten extrahiren, um alle seine Zersetzungsproducte, das Neurin in seiner wohlcharacterisirten Pt-Doppelverbindung und als salzsaures Salz, die fetten Säuren als Barytsalz, frei und als theilweise in Aether lösliche Bleiverbindungen, endlich die Glycerinphosphorsäure als Baryt- und Zinksalz zu bekommen.

Das Cholesterin, als solches sicher zu constatiren, sowohl durch den Modus seiner Darstellung d. h. durch seine Widerstandsfähigkeit gegen alkoholische Kalilauge wie durch seine Crystallform und die Jod-Schwefelsäurereaction, ist in der Retina noch viel spärlicher als in der Hirnrinde vertreten. Bekanntlich fehlen in dieser die Fette vollständig, so dass, was Petrowsky als «Fett und Cholesterin» bezeichnet, vollständig als letzteres anzusprechen ist. Darnach wird es sehr wahrscheinlich, dass dasselbe, wo es in nervösen Massen gefunden wird, zum grössten Theil dem Nervenmark zuzuschreiben ist. Denn während in der weissen Hirnsubstanz das Cholesterin über die Hälfte des Trockenrückstandes ausmacht (51,9%), beträgt es in der grauen Substanz, die verhältnissmässig viel weniger doppelcontourirte Nervenfasern einschliesst, nur noch 18,7 % der festen Bestandtheile. In der Retina nun, wo von nervösen Gebilden nur Ganglienzellen und blasse Fasern neben den Stäbchen und Zapfen vorkommen, welch letzteren freilich nach manchen Autoren die Bedeutung von Nervenmark beherbergenden Elementen zukäme, sinkt der Cholesteringehalt auf 4,1% der trockenen Substanz.

Noch evidenter stellt sich dies Verhältniss für das Cerebrin heraus. In der Retina finden sich nur Spuren, wie es ja auch schon in der grauen Substanz des Gehirns auf 1‰ herabsinkt. Aus 48,477 gr. Retina erhielt ich durch Auskochen mit Alcohol nach vorausgegangener successiver Behandlung mit unter — 5° abgekühltem Alcohol und Aether und Kochen der sich aus der heissen alkoholischen Lösung abscheidenden Körnchen mit Barytwasser nur 0,004 gr. reine Substanz, löslich in heissem, unlöslich in kaltem Alcohol und Aether, die beim Behandeln mit verdünnter SO_4H_2 einen

reducirenden Körper lieferte. Ueber den Ort, wo man das Cerebrin und wohl auch den grössten Theil des Cholesterin zu suchen hätte, kann man entweder annehmen, dass sie sich in den Nervenmark enthaltenden(?) Stäbchen fänden, (s. o.) oder dass die Marklosigkeit der Nervenfasern nicht so absolut ist, wie man gewöhnlich annimmt; denn nicht nur beim Menschen ist das Vorkommen grösserer Plaques von doppelt-contourirten Fasern ein nicht sehr seltenes, das Vorkommen sogen. halbmarkhaltiger bei Hypermetropen sogar recht häufig, auch beim Ochsen und gar nicht selten beim Hunde hat H. Müller¹⁾ das Auftreten jener beobachtet.

Wie Columne III und IV obiger Tabelle ergeben, ist ausser dem Lecithin und Cholesterin Nichts in Aether mehr Lösliches in der Retina vorhanden; mithin fehlen eigentliche «Fette» ebenso wie im Gehirn.

Die Hauptmasse der Netzhaut wird, abgesehen vom Wasser, von Eiweissstoffen gebildet. Um deren Eigenschaften ein wenig näher kennen zu lernen, behandelte ich die frischen, zerriebenen Organe mit $\frac{1}{2}$ -gesättigter NaCl-Lösung; dabei quellen dieselben zu einer cohärenten, glasigen, in lange Fäden ausziehenden Masse auf und liefern ein nur wenig opalisirendes, schwach alkalisches Filtrat, in dem mit Sicherheit drei verschiedene Eiweisskörper nachweisbar sind. Versetzt man das Filtrat mit viel Wasser, so scheidet sich eine Globulinsubstanz ab, welche beim Durchleiten von CO_2 sich flockig absetzt. Dieselbe konnte auch durch Sättigung der Lösung mit Na Cl in Flocken ausgeschieden werden, die sich, vorausgesetzt, dass man sie nicht zu lange in Berührung mit dem Kochsalz gelassen hat, beim Zusatz von Wasser wieder lösen; die erhaltene Flüssigkeit coagulirte bei 55°C. , so dass die Identität dieses Körpers mit dem Myosin nicht zu bezweifeln ist. Die ursprüngliche Flüssigkeit zeigt deutliche Coagulation ebenfalls bei dieser Temperatur; filtrirt man die bis $57\text{--}58^\circ$ erhitzte Flüssigkeit, so bekommt man ein klares Filtrat, das sich bei 60° stark zu trüben beginnt,

¹⁾ Würzburger naturwissenschaftliche Zeitschrift, Bd. 1, S. 90.

zwischen 65 und 70° dann Flöckchen zeigt, die sich allmählig absetzen; sie verhält sich also wie eine salzreiche Serumalbuminlösung. Hat man vor Anstellung der Coagulationsprobe das Myosin durch Eintragen von NaCl-Krystallen ausgefällt und so eine zur Beobachtung des Beginnes einer Trübung besser geeignete, klare, nicht opalisirende Lösung erhalten, so kann man schon bei 47° eine schwache, aber deutliche Trübung nachweisen; mithin enthält die Retina auch einen dem «Muskelalbumin» homologen Körper. Aus der vom Myosin durch Sättigung mit NaCl befreiten filtrirten klaren Lösung fällt Essigsäure auch nach starkem Verdünnen mit H₂O einen Körper zunächst als Gallerte aus, der sich im Ueberschuss nicht wieder löst, sondern in dicken Flocken sich absetzt; dieselbe Fällung geben verdünnte Mineralsäuren; in concentrirten ist die Substanz löslich und fällt beim Zusatz von Wasser wieder aus. Frisch gefällt, löst sie sich leicht in Kalilauge, dagegen nicht in Barytwasser; einmal ausgefällt bleibt sie, auch nach dem Neutralisiren der Flüssigkeit, unlöslich in Salzlösungen. In concentrirter Essigsäure quillt der Körper ein wenig. Die übrigen die Albumine characterisirenden Reactionen, soweit sie sich in der salzreichen Flüssigkeit anstellen lassen, besonders die Gelbfärbung durch concentrirte NO₃H und nachherige Orangefärbung durch KOH, die Rothfärbung mit Millon's Reagens, die Violettfärbung beim Kochen mit Alkali und SO₄ Cu geben alle positive Resultate. Mit verdünnter SO₄ H₂ einige Zeit hindurch gekocht gibt er zwar schöne Peptonreaction, aber keine Spur eines reducirenden Körpers. Nach den angegebenen Reactionen ist es kaum möglich, diesen Körper genauer zu specificiren; seine Unlöslichkeit in überschüssiger Essigsäure stellt ihn dem Mucin noch am nächsten; aber er unterscheidet sich von diesem sehr scharf durch seine Unfähigkeit, sich in Barytwasser zu lösen, durch seine Unfähigkeit eine reducirende Substanz zu liefern. In der vom Myosin und dieser Substanz befreiten Flüssigkeit lässt sich nach Abstumpfung der Säure durch CO₂ Na₂ beim Erhitzen noch Serumalbumin nachweisen. Was das quantitative Verhältniss dieser Substanzen betrifft,

so gehen sie — Myosin, mucinähnlicher Körper, Serumalbumin — in die Salzlösung über im Verhältniss von 31,8 : 67,6 : 0,6.

Anmerkung. Bei dieser Gelegenheit habe ich nicht unterlassen, sowohl des Vergleiches halber als auch weil über diesen Punkt in neuer Zeit keine Untersuchung angestellt worden ist, auch die Eiweissstoffe des Gehirnes und der peripheren Nerven in gleicher Weise zu untersuchen. Ich behandelte sowohl ein frisches, ausserordentlich anaemisches, gut abgewaschenes menschliches Gehirn wie auch einen Ischiadicus vom Ochsen mit 10 %iger NaCl-Lösung. In den Filtraten habe ich dieselben Körper auffinden können wie in der Retina, Der bei 47° C. gerinnende Körper scheint übrigens im Gehirn reichlicher vertreten zu sein wie im Nerven; darnach ist also zwischen den Albuminstoffen der nervösen Gebilde ein qualitativer Unterschied nicht aufzufinden gewesen, einerlei ob sie Ganglienzellen enthielten oder nicht. Inwieweit das Myosin der Muskeln mit dem der Nervensubstanz identisch ist, kann ich nicht sagen; die Reactionen ergaben keine Differenz.

In der obigen Tabelle (S. 5.) habe ich an zweiter Stelle «Eiweissähnliche Stoffe» angeführt; ich habe als solche das gesammte organische Material bezeichnet, das sich aus den mit kochendem Alcohol und warmem Wasser ausgezogenen Netzhäuten durch Erhitzen mit Wasser im zugeschmolzenen Rohre noch extrahiren liess. Nicht bloss die gefässhaltigen Ochsen- und Schweinenetzhäute, sondern auch die gefässlosen des Pferdes enthalten diese Substanz, die letzteren relativ zu den Eiweissstoffen eher mehr als jene. Ich erhielt bei dieser Behandlung eine braungefärbte nicht gelatinirende Flüssigkeit, die sich beim Trocknen in einen festen Firniss verwandelte; Glutin konnte ich in ihr in keiner Weise nachweisen. Die Flüssigkeit gab mit Essigsäure einen starken Niederschlag, der sich nach dem Abfiltriren in verdünntem Kalkwasser löste, sich durch Essigsäure wieder ausscheiden liess und beim Kochen mit verdünnter SO_4H_2 einen reducirenden Körper lieferte. Diesen Reactionen nach muss man ihn wohl als Mucin bezeichnen. Es ist also wahrscheinlich, dass die Retina in ihrer Bindesubstanz einen dem Mucin in seinen Reactionen gleichenden Körper in ähnlicher Bindung enthält, wie dies nach Morochowetz ¹⁾ in der

¹⁾ Verhandlungen des naturh.-med. Vereins zu Heidelberg, N. F. Bd. I, H. 5; S. 480.

Cornea der Fall ist, und wie ich es nach eigener Untersuchung bestätigen kann. Nur würde der Unterschied bestehen, dass in der Hornhaut das Mucin neben Glutin verbunden ist, während in der Retina der mit dem Mucin beim Kochen in Lösung übergehende durch Essigsäure nicht ausfällbare Körper mehr eiweissartiger Natur zu sein scheint. Die vom Mucin abfiltrirte Lösung gibt nämlich mit Ferrocyankalium einen Niederschlag, ebenso mit neutralem und basischem Bleiacetat, mit Quecksilberchlorid, Silbernitrat, kann also kein Glutin enthalten. Durch Tannin wird sie ebenfalls gefällt. Dabei gibt sie Rothfärbung mit Millon's Reagens, Gelbfärbung mit NO_2H und in der Kälte schon eine sehr deutliche Peptonreaction; Alcohol erzeugt einen Niederschlag, der sich in Wasser wieder löst; trägt man NaCl bis zur Sättigung in die Lösung ein, so bringt verdünnte Salzsäure einen Niederschlag hervor. Der Körper zeigt also die Reactionen, wie sie Schmidt-Mülheim¹⁾ von seinem Propepton angibt. Wie man aus dieser Schilderung sieht, scheint also das Gewebe der Retina, soweit es nicht nervöser Natur ist, mit der embryonalen Binde substanz Aehnlichkeit zu haben, wie dies auch Schmidt und Blessig schon betonten.

Der Gehalt der Retina an Extractivstoffen ist geringer wie der im Gehirn; die anorganischen betragen in 100 Theilen (zur Analyse kamen 0,17 grm.)

K_2SO_4	8,73
KCl	4,63
NaCl	35,16
Na_2HPO_4	42,16
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	2,71
$\text{Mg}_3(\text{PD}_4)_2$	1,10
Na_2CO_3	5,51.

Das Auffallendste an diesen Zahlen ist der sehr geringe Kalium- und der ausserordentliche Natriumphosphatgehalt; natürlich war die zu veraschende Substanz vorher vom Lecithin befreit.

¹⁾ Arch. f. Anat. und Phys. Physiolog. Abthlg 1880, S. 33.

Um einen gewissen Anhaltspunkt zu bekommen, wo hauptsächlich die in Aether löslichen Stoffe zu suchen seien, bemühte ich mich die *Wirkung der Osmiänsäure* auf die verschiedenen hier in Betracht kommenden Körper festzustellen. Bekanntlich betrachten die Microscopiker alles als Fett, was sich mit diesem Reagens schnell und intensiv schwarz färbt. Durch Schultze und Rudneff¹⁾ ist nachgewiesen, dass in der Retina die Stäbchencylinder sich mit jener Säure besonders stark färben, andre Gebilde ebenfalls, aber schwächer. Dem Aetherextract aus der Netzhaut kommt dieselbe Eigenschaft zu, während die extrahirten Häute es nicht mehr thun; es lag also nahe, die in jenem befindlichen Körper auf ihre Beziehungen zur OsO_4 zu untersuchen. Kühne²⁾ hat dies schon gethan, ist aber zu ungenügenden Resultaten gekommen. Sein «Myeloid» färbt sich mit OsO_4 ; Lecithin, Cerebrin sollen auf dieselbe nicht reducirend wirken. Bezüglich des Lecithin muss ich dem widersprechen. Sowohl das Lecithin, das ich aus Eidottern³⁾ darstellte, wie das aus der Retina durch Extraction mit kaltem Alcohol erhaltene färbten sich mit OsO_4 in $\frac{1}{2}\%$ iger Lösung sehr rasch, erst grünlich dann kohlschwarz; bringt man zu dem Lecithin, ehe man das Reagens darauf wirken lässt, ein kleines Tröpfchen CO_3Na_2 -Lösung, so geschieht die Färbung langsamer und nimmt ihren Uebergang zum Schwarz durch ein schönes Roth. Reines Cholesterin und Cerebrin dagegen bleiben in dem Reagens ganz unverändert. Bei allen Manipulationen mit OsO_4 muss man sich übrigens vor den geringsten Spuren Alcohol sehr hüten, da dieser im Verlauf einer halben Stunde sich intensiv schwarz färbt. Welchen Abbruch diese Thatsache vielleicht manchen mit Hülfe der OsO_4 aufgefundenen Beobachtungen thun mag, übergehe ich gern. Aether bleibt unverändert. Da Fette d. h. Triglyceride in der Retina fehlen (s. o.), so ist es mithin statthaft, jenes Verhalten der

¹⁾ M. Schultze's Arch. f. microscop. Anatomie, Bd. I, S. 300.

²⁾ L. c., S. 255 ff.

³⁾ Die Methode s. bei Hoppe-Seyler, l. c., S. 142.

Stäbchen und wahrscheinlich auch das der von Angelucci¹⁾ entdeckten eigenthümlichen «Aleuronkörner» in den Pigmentzellen auf einen bedeutenden Gehalt an Lecithin zurückzuführen. Die Intensität und Nuance der Färbung werden wohl hauptsächlich von der verschiedenen Quantität des Lecithins in den einzelnen Gebilden abhängen; in Betracht kommt dabei jedenfalls noch die Reaction und die Art der Bindung jenes Körpers.

Dieses Resultat bezüglich des Lecithins musste die Frage entstehen lassen, ob nicht vielleicht bei der so reichen Verbreitung desselben im Thier- und Pflanzenreich eben eine geringe Zumengung davon die als für «Fett» charakteristisch angesehene Schwarzfärbung durch OsO_4 bedingte. Um dies zu entscheiden, unternahm ich es ein reines besonders lecithin-freies Triglycerid darzustellen und es wie auch die verschiedenen Zwischenproducte bezüglich ihres Verhaltens zu jenem Reagens zu prüfen. Ich verseifte Schweineschmalz mit alcoholischer Kalilauge, fällte die Seifenlösung mit essigsaurem Baryt und wusch die erhaltenen Ba-Seifen erst mit heissem Wasser dann mit heissem Alcohol gut aus; sie färbten sich mit OsO_4 sehr langsam braun, ebenso die Kalkseifen. Diese Verfärbung konnte noch mehr verzögert, eventuell ganz verhindert werden durch Zusatz von etwas Na_2CO_3 -Lösung; die Kaliseifen färben sich gar nicht. Aus den Barytseifen wurden durch Schütteln mit Aether und verdünnter SO_4H_2 die freien Säuren dargestellt, diese in die Bleiverbindungen übergeführt, und aus dem Gemenge der drei Salze das ölsaure Blei durch Aether abgetrennt. Aus der ätherischen Lösung desselben, aus der warmen alcoholischen des palmitin- und stearinsäuren Bleies wurde durch H_2S das Blei ausgefällt. Die erhaltenen Säuren wurden in die Pflaster zurückverwandelt, wieder mit Aether behandelt und wieder Fettsäuren gebildet. Die so erhaltenen gereinigten fetten Säuren färben sich erst grau, dann schwarz, die Oelsäure ausserordentlich schnell, die Palmitin- und Stearinsäure lang-

¹⁾ Archiv f. Anatomie u. Physiologie, physiologische Abtheilung, Jahrgang 1878, S. 361.

samer aber allmählig ebenso dunkel. Um ein Triglycerid zu bekommen, liess ich Oelsäure im Ueberschuss auf bei 140°C . getrocknetes Glycerin, das durch Bleiglätte gereinigt gegen OsO_4 absolut indifferent war, im zugeschmolzenen Rohr bei 220° im Oelbad 24 Stunden hindurch einwirken. Trotzdem die Oelsäure bis zum Zuschmelzen des Rohres vor dem Einfluss der Atmosphäre durch einen CO_2 -Strom geschützt war, verwirklichte sich die Verbindung doch nur unvollständig, ein Theil zersetzte sich unter Bildung von Palmitinsäure und Essigsäure. Das erhaltene halbflüssige, halberystallinische Product in Aether gelöst und mit einer verdünnten Na_2CO_3 -Lösung und Wasser wiederholt gereinigt, reducirte die OsO_4 sehr gut; auch aus warmem Alcohol umkrystallisirt that es dasselbe. Fette, die ich durch tagelanges Schmelzen und wiederholtes Behandeln mit CO_2 Na_2 -Lösung gereinigt hatte, färbten sich ebenfalls. Darnach ist in der That der Verwendung der OsO_4 als Reagens auf Fett und einige andere fettsäurehaltige Verbindungen wie z. B. das Lecithin die Berechtigung nicht abzuspochen. Die Hoffnung, die reinen Fette ohne Einwirkung auf OsO_4 zu finden und so vielleicht ein Reagens auf Lecithin zu bekommen, hat sich nicht verwirklicht. Andere reducirende Körper wie z. B. die verschiedenen Zuckerarten verhalten sich dagegen ganz indifferent.

Sehr interessant ist das Verhalten des Neurins, das in freiem Zustande mit OsO_4 zusammengebracht, sich nach einiger Zeit weinroth färbt ganz wie das Lecithin, wenn es mit etwas Alkali behandelt war, dann allmählig dunkelviolet und zuletzt schwarz wird, das dagegen wenn es mit Säuren verbunden ist, sich ganz unverändert beim Zusatz von OsO_4 verhält. Darauf ist jedenfalls das verschiedene Verhalten des Lecithins bei verschiedener Reaction zurückzuführen. Man kann sich vorstellen, dass das eine Mal OsO_4 durch die fetten Säuren, das andere Mal durch das freiwerdende Neurin reducirt wird und so die verschiedenen Mischfarben erklären, die man in den einzelnen Fällen findet.



B. Glaskörper und Kammerwasser.

Da über Natur und Menge der in diesen beiden Flüssigkeiten vorkommenden Eiweisskörper bei den verschiedenen Autoren¹⁾ grosse Differenzen herrschen, unternahm ich eine diesbezügliche Untersuchung. Das, wie oben beschrieben, gewonnene Kammerwasser stand mir zu den einzelnen Bestimmungen in Quantitäten von je ca. 25—50 Cc. zu Gebote; die einfach durch Zerschneiden und Filtriren des Glaskörpers erhaltene Flüssigkeit konnte ich in sehr grossen Quantitäten verarbeiten. Ich fand den Humor vitreus von 1009 spec. Gew. ziemlich stark alkalisch reagirend. Die Flüssigkeit blieb beim Neutralisiren mit Essigsäure klar, trübte sich beim Ansäuern, klärte sich aber beim weiteren Zusatz wieder auf. Auch in NaCl-Lösung ist der Niederschlag wieder löslich. Die Löslichkeit in Säuren beweist, dass kein Mucin²⁾, die in Salzlösungen, dass kein Alcalialbuminat vorhanden ist. Da Glaskörper beim Einleiten von CO₂ sich etwas trübt, so war es wahrscheinlich, dass man es hier mit einer Globulin-substanz zu thun habe. (Schon Lohmeyer hat dies vermuthet). Bestätigt wurde dies dadurch, dass eine unter der Luftpumpe über SO₄ H₂ nach Abstumpfung der alkalischen Reaktion über die Hälfte eingeeengte Portion mit crystallisirter MgSO₄ gesättigt sich trübte und Flöckchen ausschied, die mit dem überschüssigen Salz abfiltrirt sich in Wasser wieder lösten und beim Erhitzen coagulirten. Eine zweite ebenso

¹⁾ Vergl. Dogiel, Archiv f. d. ges. Physiol., Bd. XIX, S. 339.

Jesner, Dieselbe Zeitschrift, Bd. XXIII, S. 14 ff.

Deutschmann, Gräfe's Arch. f. Ophthalmol., Bd. XXV, 1. Abthlg., S. 101.

²⁾ Die Existenz von Mucin von Virchow als allgemein angegeben, wird von Schwalbe für den Menschen und die Fische aufrecht erhalten, für den Ochsen bestritten. (Handb. von Gräfe-Sæmisch, Bd. I, S. 462). Portés dagegen, der auf Veranlassung von Beauregard den Glaskörper des Ochsen untersuchte, will darin ein «Hyalomucin», Albumin und Globulin gefunden haben (Journ. pour l'anatomie et la physiologie, p. 241) zusammen 1,92‰. Meine Erfahrungen bezüglich des Mucin im Humor vitreus des Ochsenauges stimmen mit denen Schwalbe's und Lohmeyer's überein (Zeitschr. f. rat. Med. von Henle und Pfeifer, N. F., Bd. V, S. 65).

behandelte Parthie durch Dialyse vom grössten Theil ihrer Salze befreit, gab alle die gewohnten Eiweissreactionen und beim Durchleiten von CO_2 eine verhältnissmässig bedeutende Trübung. Da in dem durch SO_4Mg von Globulin befreiten Filtrat durch die Coagulationsprobe sich noch Eiweiss erkennen lässt, ist im Humor vitreus eine Globulinsubstanz und Serumalbumin vorhanden. Jene verhält sich bei der Coagulationspunctbestimmung wie die des Blutserum.

Für den Humor aqueus gilt ganz dasselbe, nur dass der durch Essigsäure entstandene Niederschlag im Ueberschuss noch leichter löslich ist. Der einzige qualitative Unterschied zwischen beiden Flüssigkeiten ist der, dass sich das Albumin des Kammerwassers beim Kochen der schwach angesäuerten Lösung sehr leicht flockig absetzt und über sich eine völlig klare Lösung lässt, während der Glaskörper immer trüb bleibt und nur schwierig klare Filtrate gibt, ein Verhalten das schon Lohmeyer betont, und das Deutschmann wie Jesner verführte, dem Glaskörper einen erheblich grösseren Eiweissgehalt zuzuschreiben wie dem Kammerwasser. Quantitative Bestimmungen ergaben Gleichheit. Durch Coagulation der schwach angesäuerten Flüssigkeiten fand ich in verschiedenen Bestimmungen:

im Humor vitreus	im Humor aqueus
0,060 ‰	0,068 ‰
0,0688 »	0,085 »
0,086 »	0,090 »
0,072 »	0,078 »
0,077 »	0,095 »
0,079 »	0,080 »

In allen Filtraten war durch Essigsäure und Ferrocyankalium kein Eiweiss mehr nachweisbar. Um den Maximalgehalt zu bestimmen, dampfte ich 280 Cc. Glaskörperflüssigkeit nach dem Neutralisiren bis zum Auskrystallisiren des NaCl ein, filtrirte die Flocken ab, wusch mit heissem Wasser aus und erhielt so 0,254 gr., also 0,0907 ‰. Lohmeyer hat thatsächlich bis zu 0,053 ‰ gefunden; seine Tabelle gibt dann freilich 0,136 ‰ an. Mit Hülfe von Hammarsten's Methode

versuchte ich das Verhältniss von Serumglobulin zu Serumalbumin zu bestimmen :

im Humor vitreus	im Humor aqueus
0,03 : 0,038 %	0,045 : 0,045 %
0,044 : 0,030 »	0,050 : 0,030 »
0,046 : 0,043 »	
0,050 : 0,028 »	

Addirt man beide Zahlen, so passen sie ganz gut zu den durch Coagulation gefundenen. Deutschmanns¹⁾ durch Erhitzen der mit schwefelsaurer Magnesia stark versetzten Flüssigkeiten erhaltene sind etwas grösser 0,12 und 0,113%. Als procentische Zusammensetzung beider Flüssigkeiten ergeben sich folgende Zahlen:

	Humor vitreus.	Humor aqueus.
Eiweiss	0,074	0,082
Uebrige org. Subst. . .	0,071	0,148
Asche	0,971	0,993
Wasser	98,884	98,777

Die anorganischen Bestandtheile zeigen folgende Zusammensetzung:

	Humor vitreus.	Humor aqueus.
K ₂ SO ₄	3,74	5,99
KCl	5,57	2,92
NaCl	74,43	78,11
PO ₄ HNa ₃	1,82	1,99
(PO ₄) ₂ Ca ₃	0,44	0,62
(PO ₄) ₂ Mg ₃	0,22	0,40
Na ₂ CO ₃	12,67	8,72

Demnach schliessen sich die wässerigen Augenflüssigkeiten zunächst der Cerebrospinalflüssigkeit²⁾ und den eiweissärmsten Transudaten an. Das Kammerwasser ist eine derartige in einen grösseren, der Humor vitreus eine in eine Menge kleiner durch Zwischenwände getrennter Räume vertheilte Flüssigkeit.

¹⁾ Graefe's Archiv f. Ophth. Bd. XXV, 2. Abthlg., S. 222 u. 223.

²⁾ Analysen derselben siehe Hoppe-Seyler physiol. Chemie, III. Theil, S. 223.

Was diese hyalinen, leicht zerreislichen Membranen betrifft, welche trotz des Widerspruchs von Beauregard ¹⁾ bestehen müssen, so betragen sie beim Ochsen 0,0281 % (Lohmeyer 0,021). Dieselben ohne Pigmentverunreinigungen auf Asbestfilter gesammelt, gut ausgewaschen und mit Wasser im zugeschmolzenen Glasrohr 16 Stunden auf 120 ° C. erhitzt, lösten sich zu einer gelbbraunen nicht gelatinirenden Flüssigkeit, die mit Gerbsäure einen voluminösen Niederschlag lieferte und sich mit KOH und SO_4Cu erhitzt roth färbte. Jedenfalls gehören sie also nicht zu den «Glashäuten», welche wie man sich von der Descemetis leicht überzeugen kann, dieser Procedur vorzüglich widerstehen.

C. Cataract.

Die chemische Zusammensetzung der normalen Linse ist durch die von Laptschinsky ²⁾ im hiesigen Institute vorgenommenen Untersuchungen festgestellt. Ich möchte dem dort Berichteten nur eine Bemerkung bezüglich der Eiweisskörper zufügen. Bekanntlich hat Hammarsten in der SO_4Mg ein vorzügliches Mittel angegeben, die Globulinsubstanzen vollständig auszufällen; es lag nahe, die Wirkung desselben auf die Linse zu versuchen. Wenn man frische Thierlinsen mit dem crystallisirten Salze zusammenreibt und mit gesättigter SO_4Mg -Lösung auswäscht, geht kein Eiweiss in diese über. Demnach besteht die Linse ganz aus Globulinsubstanzen; ob aus einer einzigen, ist noch fraglich. Das Vitellin des Eidotters, mit dem das «Crystallin» ja auch sonst identisch ist, theilt die Unlöslichkeit in gesättigter SO_4Mg -Lösung. Befreit man die zerriebene Linsenmasse durch Dialysiren von dem überschüssigen Salze, so kann man mit der auf dem Dialysator bleibenden Flüssigkeit dieselben Reactionen anstellen, wie sie Laptschinsky mit den frischen Organen erhielt; Durch H_2O und CO_2 wird der grösste Theil des Albumins gefällt; ein Theil bleibt gelöst.

¹⁾ Etude du corps vitré. Journal de l'anat. et de la physiol. 1880, S. 223.

²⁾ Archiv f. d. ges. Physiol., Bd. XIII, S. 631.

Ich lasse nun den Bericht über einige Untersuchungen von Alterscataracten folgen, für die ich das Material der Güte des Herrn Professor Dr. Laqueur verdanke, der mir sowohl eine Menge in Alcohol bewahrter Staare als auch die im Sommersemester frisch extrahirten überliess. Angaben über die chemischen Verhältnisse der Cataract liegen nur spärlich vor. Jacobsen ¹⁾ hat auf Veranlassung von Zehender und Matthiesen einige Analysen gemacht. Er fand in allen eine bedeutende Zunahme des Cholesterin. In einem Falle konnte er keine in Wasser löslichen Eiweissstoffe nachweisen; in zwei andern daraufhin untersuchten Fällen fand er keine qualitativen Veränderungen der Albuminstoffe. Knies ²⁾ hat Verdauungsversuche mit entfetteten Cataracten angestellt; er fand kein Keratin; im Aetherextract fand er kein Cholesterin, dagegen ein wenig «Myelin», ein so undefinirbares Etwas, dass Niemand sich dabei etwas denken kann. Vielleicht ist es Lecithin gewesen; der Beweis wäre nicht unschwer zu erbringen gewesen. Wasserbestimmungen an mit der Kapsel extrahirten Cataracten hat Deutschmann ³⁾ ausgeführt, die im Mittel 76,23 gegen 69,06 % in normalen Linsen ergaben. Doch muss ich bemerken, dass die von Jacobsen angegebenen Zahlen (63,45 Cataract 73,6 normal) das Gegentheil aussagen. Freilich sind jene an einem vorwurfsfreieren Material gewonnen; der vermehrte Wassergehalt, worauf Deutschmann seine Cataracthypothese stützt, bleibt aber immerhin noch nicht über allen Zweifel erhaben. Ich habe keine Wasserbestimmungen gemacht, da die frischen mir erreichbaren Exemplare natürlich immer mit Kammerwasser, einzelne mit Blutspuren verunreinigt waren. Die Alcoholexemplare bearbeitete ich nach denselben Plane, wie Laptschinsky, dessen mit den von Professor Hoppe-Seyler übereinstimmende Mittelzahlen die letzte Rubrik gibt. 100 Theile des festen Rückstandes enthalten:

¹⁾ Klin. Monatsblatt für Augenheilkunde XV. Jahrg. S. 313 ff.

²⁾ Mitthlg. a. d. physiol. Institut. in Heidelberg, Bd. I, H. 2, S. 114.

³⁾ L. c., S. 216.

	In Cataracten.		In normaler Linsen-substanz.
Eiweiss	81,48	85,87	94,71
Cholesterin	6,22	4,55	0,62
Lecithin	4,52	0,803	0,63
Fett	—	1,19	0,79
Alcoholextract	0,83	1,45	0,71
Wasserextract	3,94	2,76	1,52
Lösliche } Salze	1,81	2,41	1,36
Unlösliche }	1,14	1,45	0,46

Wenn man bedenkt, dass hier Organe untersucht wurden, in denen doch der pathologische Prozess verschieden weit vorgeschritten ist, so zeigen beide Reihen eine ziemlich Uebereinstimmung. Höchst auffallend ist nur der in der ersten Analyse gefundene colossale Lecithingehalt. Ihn auf Verunreinigung mit Blut zurückzuführen, ist unmöglich, umsomehr da gerade in diesem Falle die Asche kaum gefärbt war. Man hätte erwarten sollen, in Theilen, die doch so weit in der regressiven Metamorphose fortgeschritten, bei einem Prozesse, bei dem die Betheiligung der sonst allgegenwärtigen weissen Blutkörperchen mit Sicherheit auszuschliessen ist, jenen Körper, der doch sonst nur in den thätigsten und entwicklungsfähigsten Geweben vorkommt, ganz verschwinden zu sehen. Die Pt-bestimmung in Aetherextract ergab jedoch auch im 2. Falle einen grössern Gehalt als in normalen Linsen. Jedenfalls ist der Befund interessant, wenn auch nicht recht verständlich. ¹⁾ Wieso Knies kein Cholesterin fand, ist mir nicht recht erklärlich; ich fand dasselbe ebenso wie Jacobsen sehr bedeutend vermehrt. Da wie Laptschinsky nachgewiesen hat, in bernsteingelben von alten Thieren stammenden Linsen, jedenfalls nicht mehr Cholesterin enthalten ist, eher weniger als in jugendlichen, muss man die hier constatirte Zunahme auf den cataractösen Prozess zurückführen. Die Extraktivstoffe und die anorganischen Bestandtheile sind ebenfalls beträchtlich vermehrt.

¹⁾ Dastre und Morat wollen die bei Phosphorvergiftung und ähnlichen Degenerationen sowie die bei Nephritis in den Zellen sich vorfindenden mit OsO_4 sich schwarz färbenden Körnchen als Lecithin erkannt haben. (Gazette medicale de Paris 1879).

Die in frischem Zustande erhaltenen Cataracte conservirte ich 2—3 Wochen, bis eine genügende Menge zur Untersuchung bereit war, in ziemlich concentrirter Salzlösung und bestimmte dann in ihnen das Verhältniss der in Wasser und CO_2 unlöslichen zu den darin löslichen durch Coagulation bestimmbaren Albuminstoffen. Die absolute Menge derselben ist vermindert. Der bei jener Behandlung ungelöst gebliebene Theil wurde noch mit Alcohol ausgekocht und ebenso wie der aus der Flüssigkeit durch Coagulation gewonnene bei 110° getrocknet. In zwei Versuchen stellte sich das Verhältniss beider heraus wie:

$$0,284 : 0,029$$

$$0,3058 : 0,015,$$

während es sich in normalen Linsen nach Laptschinsky wie 23:11 stellt. (Vergl. auch den einen oben citirten Befund Jacobsens). Hält man mit dem am Anfange erwähnten Ergebniss, wonach alle Eiweisssubstanzen der Linse Globuline sind, und der anscheinende Serumalbumingehalt nur von der unvollständigen Ausfällung jener durch CO_2 und H_2O herrührt, zusammen, dass in der Cataract diese Mittel eine viel vollständigere Ausscheidung bewirken, so wird man geneigt, anzunehmen, dass in ihr schon vorher ein Theil der Eiweisssubstanzen in eine unlösliche Modification übergegangen war und die Trübung mitbedingen half. Welches diese Modification sei, wird schwer zu ermitteln sein; Keratin wie es Becker¹⁾ einmal vermuthungsweise aussprach, ist es, wie Knies nachgewiesen, nicht (vergl. oben).

Verminderung der Albuminstoffe, theilweiser Uebergang in einen geronnenen Zustand, gleichzeitige Bildung von Cholesterin und Lecithin, Vermehrung der Extractiv- und anorganischen Stoffe, das wären die Resultate dieser Untersuchung. Einen Schluss daraus auf den cataractösen Process selbst zu ziehen, d. h. auf die Art und Weise, wie diese Endproducte sich bilden, halte ich nicht für möglich, wenn man nicht vage Hypothesen aufstellen will.

¹⁾ Handbuch von Gräfe-Sæmisch, Bd. V, S. 169.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich mir die Bemerkung erlauben, dass man bei den vielfachen Controversen, zu denen die Cataractentwicklung schon geführt hat, die Möglichkeit chemischer Veränderungen viel zu niedrig angeschlagen hat. Globulinkörper und ganz besonders die der Linse sind sehr geneigt auf Veränderungen in der Concentration der Salzlösungen zu reagiren, mit denen sie in Berührung stehen. Heubel¹⁾ z. B. verwahrt sich ausdrücklich, andere als «physikalische» Veränderungen bei der experimentell nach Kunde's oder seiner Methode durch Salzzufuhr zum Auge hervorgebrachten Cataract anzunehmen; und doch spricht er davon, dass gerade in den betreffenden beschränkten Linsenparthieen erheblich mehr Salz und weniger Wasser vorhanden sei als in der Norm, mithin eine der Bedingungen, deren wir uns bedienen, um Globuline auszufällen. Freilich irreparabel ist der Vorgang nicht; wie wir im Reagensglas durch neue Zufuhr von Wasser oder Entfernung von Salz, d. h. durch Diluiren der Lösung die gefällten Körper wieder lösen, ebenso wird es im Auge geschehen. Dass solche Vorgänge in lebenden Zellen vorkommen, beobachtet man bei Amöben direct unter dem Microscop, wenn man die Concentration der Lösungen, in denen die Protisten schwimmen, ändert.

Ebenso sind die Trübungen bei Cataracta traumatica als Folge der Ausfällung der Eiweissstoffe der Linse zu betrachten. Wenn die Kapsel verletzt und so der lebendige Schutz der Linse aufgehoben ist, wirken das Wasser und die Kohlensäure des Humor aqueus auf dieselben in den Linsenröhrchen ebenso ein, wie wir sie in unseren Versuchen darauf wirken lassen. (Es ist dies eben der zweite Modus, wie man Globulinsubstanzen niederschlägt, entweder durch Zufuhr von Salzen oder durch grössere Mengen Wasser und Einleiten von CO_2). Es entstehen Trübungen, bilden sich Flocken, die in die Kammer fallen und von hier ebenso abgeführt werden, wie die experimentell eingespritzten Farbenkörnchen, wie die iritischen Beschläge. Wie tief der Prozess greife, hängt davon ab, wie rasch sich die Kapselwunde wieder

¹⁾ Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. XX, S. 114 ff.

schliesst, d. h. wie lange das Kammerwasser eindringen kann, vielleicht auch von der Art und Beschaffenheit der Wege, die es, zwischen den Linsenfasern sich verbreitend, aufsuchen kann, um auf dieselben seine chemische Wirkung auszuüben.

Ehe ich schliesse, sei es mir noch gestattet, Hrn. Prof. Dr. Hoppe-Seyler für die Anregung zu dieser Arbeit, für die vielfache Unterstützung, die er derselben zu Theil werden liess, meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Auch den Assistenten, Herren Dr. Herter und Dr. Kossel sage ich für ihre mannigfachen Bemühungen meinen besten Dank.

11815

Strassburg, Buchdruckerei H. L. Kayser.

