

Hyaluronsäure läßt sich in der Gelenkflüssigkeit elektrophoretisch nachweisen^{1,2}. Die in den Elektrophoresediagrammen von Gelenkpunktaten auftretende «Hyaluronsäurezacke» (vgl. Abb. 1) ist in den mit beschallten Proben erhaltenen Diagrammen deutlich reduziert, ebenso die nahe der Albumingrenzschicht wandernde Komponente (Abb. 2). Ein ähnliches Diagramm liefert die Gelenkflüssigkeit nach Einwirkung von Hodenextrakt³ (Hyaluronidase). Die bisherigen Elektro-

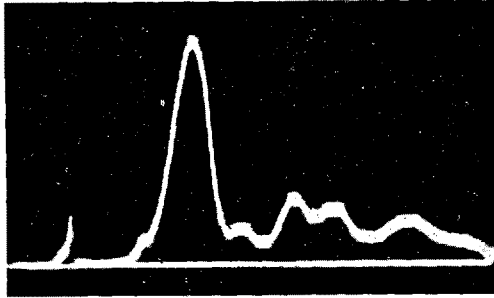


Abb. 1. Kniespunktat M, nicht beschallt.

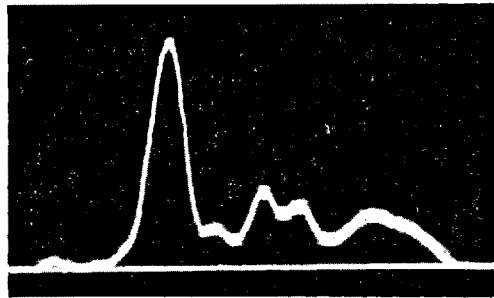


Abb. 2. Kniespunktat M, 10 Minuten lang beschallt.

Elektrophoresediagramme (absteigende Grenzschichten) von Kniespunktaten in Oxalat-Veronal-Acetattuffer (p_H 8,6, I 0,1).

phoreseversuche lassen noch keine mit Sicherheit auf die Ultraschalleinwirkung zu beziehende Veränderung der Proteine der Gelenkflüssigkeit erkennen. In einigen Proben ist nach der Beschallung eine geringe Zahl von Eiweißflockchen zu beobachten.

Hyaluronsäure wird durch Ultraschall offenbar depolymerisiert³. Über den Mechanismus dieses Vorganges und die dabei aus Hyaluronsäure entstehenden Produkte soll nach weiteren Untersuchungen berichtet werden.

W. HUNZINGER, H. SÜLLMANN und G. VIOLIER

Eiweißlaboratorium der Medizinischen Klinik, Chirurgische Klinik und Institut für physikalische Therapie der Universität Basel, den 30. August 1949.

Summary

The viscosity of synovial fluids and hyaluronic acid solutions, obtained from vitreous humour, are lowered by ultrasonic vibrations. Electrophoretic analysis reveals that the content of hyaluronic acid in these ultrasonically treated solutions is diminished.

¹ G. BLIX, Acta physiol. Scand. 1, 29 (1940). – L. HESSELVIK, Acta med. Scand. 105, 153 (1940).

² O. SCHÜRCH, G. VIOLIER und H. SÜLLMANN, Helv. physiol. acta 7, C 23 (1948).

³ Über die Depolymerisation von anderen hochmolekularen Stoffen vgl. A. SZALAY, Z. physik. Ch. (A) 164, 234 (1933). – E. THIEME, Physik. Z. 39, 384 (1938). – G. SCHMID und O. ROMMEL, Z. physik. Ch. (A) 185, 97 (1939); Physik. Z. 41, 326 (1940). – H. GOHR und Th. WEDEKIND, Klin. Wschr. 19, 25 (1940).

Der Einfluß von Jodcaseinpräparaten auf den Sauerstoffverbrauch der Larven von *Xenopus laevis* DAUDIN¹

Es ist schon seit langem bekannt, daß Schilddrüsenpulver, Thyroxin und auch thyroxinhaltige Substanzen, wie Jodcaseinpräparate, die Metamorphoseprozesse in Amphibienlarven beeinflussen. Auf diese Erscheinungen haben DEANESLY und PARKES² ihren «Vorderbeindurchbruchtest», zur Bestimmung des Thyroxingehalts verschiedener Substanzen gegründet.

Diese Methode beruht also auf den von dem Thyroxin bewirkten äußeren morphologischen Änderungen.

Es ergab sich aus einer Arbeit von TUCHMANN-DUPLESSIS³, daß eine Eichungsmethode, beruhend auf histologischen Veränderungen in den Schilddrüsen der behandelten Versuchstiere, nicht brauchbar war.

Wir hofften nun, mittels eines dritten Kriteriums, nämlich der Änderungen im Metabolismus, gemessen am Sauerstoffverbrauch der Larven eine empfindliche quantitative Eichungsmethode ausarbeiten zu können.

Selbstverständlich sind die genaueren Beziehungen zwischen der induzierten Metamorphose und den Änderungen im Metabolismus der Larven hier von großer Bedeutung.

Trotz der vielen Untersuchungen herrscht auf diesem Gebiet keine Einigkeit unter den verschiedenen Autoren. UHLENHUTH⁴ z.B. betrachtet die Metamorphose nach Thyreoidbehandlung als Folge eines gesteigerten Metabolismus. ETKIN⁵ andererseits zeigte, daß der von früheren Autoren vielfach herbeigeführte Gewichtsverlust nicht als Beweis für Stoffwechseländerungen gelten darf, sondern nur auf Wasserverlust und Leerung des Darms beruht.

Was die Änderungen im Metabolismus von mit Schilddrüsen behandelten Amphibienlarven anbelangt, werden zur Hauptsache die folgenden zwei Ansichten vertreten.

GROEBBELS⁶, ABELIN und SCHEINFINKEL⁷ und HELFF⁸ fanden einen gesteigerten Sauerstoffverbrauch.

ETKIN konnte keine Änderungen im Sauerstoffverbrauch der behandelten Larven feststellen.

In unseren eigenen Experimenten haben wir darum immer mit jungen noch weit von der Metamorphose entfernten Larven gearbeitet, so daß Abweichungen im normalen Metabolismus, die die Metamorphose zweifellos hervorruft, nicht störend einwirken konnten.

Methoden

Die *Xenopus*-eier wurden in der gewöhnlichen Weise nach Einspritzung von gonadotropem Ciba-Hormon gewonnen. Den Larven wurde Brennesselpulver verfüttert (Gasche⁹). Nach 20 Tagen sind die Larven geeignet für die Sauerstoffbestimmungen.

Während der Vorbehandlung von 3 Tagen befinden sich die Larven zu je fünf in Bechergläsern mit 200 cm³ Jodcaseinsuspension

¹ 27. Mitteilung der «Forschungsabteilung für Endokrinologische Untersuchungen» der Niederländischen Organisation für angewandte landwirtschaftliche Untersuchungen.

² R. DEANESLY und A. S. PARKES, J. Endocrinol. 4, 324 (1945).

³ H. TUCHMANN-DUPLESSIS, Bull. d'Hist. appl. et de Techn. microsc. 25, 123 (1948).

⁴ ED. UHLENHUTH, Amer. Natur. 55, 193 (1921).

⁵ W. ETKIN, Physiol. Zool. 7, 129 (1934).

⁶ F. GROEBBELS, Z. Biol. 75, 155 (1922).

⁷ I. ABELIN und N. SCHEINFINKEL, Pflügers Arch. 198, 151 (1923).

⁸ O. M. HELFF, J. Exp. Zool. 45, 69 (1926).

⁹ P. GASCHÉ, Rev. suisse Zool. 50, 202 (1943).

Sauerstoffverbrauch von je 10 Kontrolllarven und von je 10 mit verschiedenen Konzentrationen Jodcasein behandelten Larven von *Xenopus laevis*, berechnet auf $\text{cm}^3 \text{O}_2$ pro g Lebendgewicht. T. 24° C.

O ₂ -Verbrauch, Kontrollen	Jodcasein-konzentration	O ₂ -Verbrauch, Jodcaseinlarven	Differenz D	Mittlerer Fehler der Differenz m	Differenz in % der Kontrollen
0,128 ± 0,0091	1,303 · 10 ⁻⁶	0,148 ± 0,0083	0,020	0,0124	15,6*
0,174 ± 0,0017	2,078 · 10 ⁻⁶	0,209 ± 0,0082	0,035	0,0084	20,8
0,144 ± 0,0153	3,312 · 10 ⁻⁶	0,197 ± 0,0148	0,053	0,0221	36,8
0,141 ± 0,0125	5,280 · 10 ⁻⁶	0,194 ± 0,0037	0,053	0,0130	37,6
0,176 ± 0,0087	8,410 · 10 ⁻⁶	0,206 ± 0,0155	0,030	0,0177	17,0*
0,101 ± 0,0069	1,347 · 10 ⁻⁶	0,145 ± 0,0082	0,044	0,0107	43,7

von bestimmter Konzentration. Die Larven wurden während dieser Zeit nicht gefüttert. Die Bechergläser sind «zufallsmäßig in einem Aquariumthermostat verteilt.

Für unsere Experimente gebrauchten wir immer ein Jodcaseinpräparat, das eine chemisch bestimmte Menge von 0,41% Thyroxin enthält. Durch längeres Zerreiben mit Wasser, abgewechselt mit Zentrifugieren, gelang es, die harten Jodcaseinpräparate gleichmäßig zu suspendieren. Während der Versuche befanden sich 10 Larven in mit O₂-gesättigtem Wasser gefüllten Flaschen, die ohne Zusatz von Luft verschlossen werden konnten. Alle Versuche wurden bei einer Temperatur von 23–24° C ausgeführt. Die Wasserproben für die Sauerstoffbestimmungen wurden mit der von VAN DAM¹ beschriebenen, aufschraubbaren Mikropipette entnommen und danach in kleinen Kölbchen mittels einer REHBERGSchen² Mikrobürette mit Na₂S₂O₃ (0,3 N) titriert. Der Nitritgehalt des Utrechter Leitungswassers ist 0. Also wurde bei den Sauerstoffbestimmungen des Ausgangswassers kein Nitritfehler verursacht (ALLEE und OESTING³).

Das Lebendgewicht der Larven wurde mittels einer Torsionswaage bestimmt.

Resultate

Es zeigte sich, daß sich der Sauerstoffverbrauch von einer bestimmten Anzahl Larven zur Dauer ihres Aufenthaltes in den Versuchsflaschen proportional verhielt, so daß alle Beobachtungen auf eine Versuchszeit von 60 Minuten umgerechnet werden konnten. Auch konnten wir feststellen, daß der Sauerstoffverbrauch von 5 unbehandelten Larven zu verschiedenen Zeitpunkten am selben Tag konstant ist, so daß wir unsere Beobachtungen, die sich immer über einen ganzen Tag ausdehnten, ohne weiteres miteinander vergleichen konnten.

In der Tabelle sind die Ergebnisse vergleichend dargestellt. Für jede Konzentration wurden 5 Bestimmungen mit je 10 Larven gemacht, am selben Tag wurden ebenso viele Kontrollversuche mit unbehandelten Larven gemacht. Wie gesagt, die erhaltenen Werte sind auf eine Versuchsdauer von 60 Minuten umgerechnet. Man sieht, daß mit zunehmender Konzentration eine Erhöhung im Sauerstoffverbrauch einhergeht. Die mit * bezeichneten Werte für die Konzentrationen 1,303·10⁻⁶ und 8,410·10⁻⁶ geben keinen statistisch gesicherten Unterschied gegenüber den Kontrollversuchen ($D/m < 2$).

Aus unseren Experimenten können wir also schließen:

1. das zugegebene Thyroxin enthaltende jodierte Eiweiß verursacht in den meisten Fällen eine statistisch gesicherte Steigerung des Sauerstoffverbrauches. Diese Befunde zeigen also gute Übereinstimmung mit den Resultaten von GROEBBELS und späteren Untersuchern und widersprechen ETKINS Ansichten.

2. Eine sehr niedrige Jodcaseinkonzentration von 2,078·10⁻⁶ verursacht nach einer Einwirkungsdauer von 3 Tagen schon eine Erhöhung im Sauerstoffkonsum von 20,8%. Dasselbe Jodcaseinpräparat bewirkt aber bei gleicher Einwirkungsdauer erst dann einen Vorderbeindurchbruch, wenn die Konzentration oberhalb 6,0·10⁻⁶ liegt. Thyroxin löst also schon bei einer viel niedrigeren Konzentration als derjenigen, welche für Metamorphoseinduktion notwendig ist, einen gesteigerten Sauerstoffverbrauch aus.

Diese Befunde könnten darauf hinweisen, daß bei mit Thyroxin behandelten Amphibienlarven der gesteigerte Stoffwechsel und die induzierte Metamorphose zwei nicht notwendig gekoppelte Prozesse sind. Auch HELFF und ETKIN haben diese Ansicht vertreten, im Gegensatz zu UHLENHUTH und GROEBBELS.

3. Bei einer relativ sehr hohen Jodcaseinkonzentration von 1,347·10⁻⁶ wird der Sauerstoffverbrauch im Vergleich mit den unbehandelten Larven nur um 43,7% gesteigert. Auch das könnte man als Hinweis auf die Unabhängigkeit von Stoffwechselerhöhung und Induktion der Metamorphose deuten.

4. Obschon der Sauerstoffverbrauch empfindlich auf jodcaseinhaltige Präparate reagiert, ist er wegen der zu großen Schwankungen als Maß für die Wirksamkeit der Präparate nicht verwendbar.

Die vorstehenden Untersuchungen wurden im Namen der Organisation TNO. ausgeführt; Herrn Dr. J. J. DUUYVENÉ DE WIT möchte ich an dieser Stelle danken für finanzielle Unterstützung und das der Arbeit entgegengebrachte Interesse. Dank schulde ich ferner Herrn Dr. H. J. VONK für zahlreiche praktische Ratschläge. Herrn Prof. Dr. G. J. VAN OORDT, Herrn Dr. H. GLOOR und Herrn J. LEVER bin ich für Hilfe und Kritik bei der Zusammenstellung des Manuskriptes sehr verpflichtet.

F. H. SOBELS¹

Zoologisches Laboratorium, Abt. für Endokrinologie und Laboratorium für vergleichende Physiologie, Utrecht, den 15. September 1949.

Summary

(1) By using a microtitration method, the oxygen consumption of *Xenopus* larvae, which were treated with different concentrations of iodinated casein preparations, was measured. (2) Treatment with low concentrations, inducing no front-leg eruption, i.e. metamorphosis, nevertheless led to a significant increase of oxygen consumption. (3) Thus we concluded that in Amphibian larvae induced metamorphosis and raise in metabolism after treatment with thyroxin are not necessarily linked. (4) It appeared not to be possible to use the increased oxygen consumption for estimating quantitatively thyroxin concentration in iodinated caseins.

¹ Zur Zeit Zoologisch-vergleichendes anatomisches Institut der Universität Zürich.

¹ L. VAN DAM, J. Exp. Biol. 12, 80 (1935).

² P. B. REHBERG, Biochem. J. 19, 270 (1925).

³ W. C. ALLEE und R. OESTING, Phys. Zool. 7, 509 (1934).