

Summary

Carbonic anhydrase activity, as demonstrated histochemically, is present in human skin. Especially high enzyme activity was found in eccrine sweat glands. Probably there are relations between acidic nature of sweat and enzyme activity. Full-length report see in Arch. Dermat.

Veränderungen der thermoelastischen Eigenschaften von Sehnenfasern beim Altern

Bei Untersuchung der Frage, ob beim Altern charakteristische Veränderungen im elastischen Gewebe bzw. Collagen¹ vor sich gehen, wurden die thermoelastischen Eigenschaften an den Sehnen des Schwanzes von weissen Ratten verschiedenen Alters geprüft.

Die Tiere stammten aus der Inzucht unseres Institutes und waren 3–33½ Monate alt. Sie können vom 5. Monat an als erwachsen, vom 18. Monat an als alt bezeichnet werden. Sie erreichen nur in 50% ein Alter von 23½ Monaten.

Aus dem Schwanz der Ratte lassen sich die Sehnen als Bündel feiner Fasern in Längen von mehreren Zentimetern mit Leichtigkeit auspräparieren. Wir haben 50 mm lange Stücke lebensfrisch in einer feuchten Kammer gewogen und auf gleiches Gewicht (20–21 mg), durch Ablösen einzelner Fäden, gebracht. Die Sehnenfäden wurden dann so in einen Plexiglashalter eingespannt, dass 15 mm zur Dehnung frei blieben. Dieses Stück wurde an einem empfindlichen Hebel, der in einem Kugellager lag, befestigt. Er hatte geringes Übergewicht und vergrösserte 9,5fach. Das Gewebestück befand sich in Ringer-Tyrode-Lösung, die erwärmt und mit Luftdurchperlung gemischt war.

Bei Registrierung der Länge der Sehnen sieht man zwischen 38 und 60°C nichts. Bei 3 und 4 Monate alten Tieren treten selbst bis 66°C keine Veränderungen auf. Oberhalb dieser Temperatur reissen die Sehnen ohne vorangehende Verkürzung.

Vom 5. Monat an erscheint bei Erwärmung auf 64 bis 66°C plötzlich eine Verkürzung. Hält man die Temperatur nun konstant, so bleibt diese während einiger Minuten bestehen. Erwärmt man noch etwas mehr, so wird die Sehne «glasig» und reisst zwischen 66 und 70°C.

Mit zunehmendem Alter ändert sich makroskopisch gar nichts an diesen Sehnen, aber die thermische Kontraktion bei 64–66°C nimmt vom 5. Monat an, also bei geschlechtsreifen Tieren, stark zu. In den nächsten zehn Monaten bleibt sie ziemlich gleich und beträgt etwa 10%.

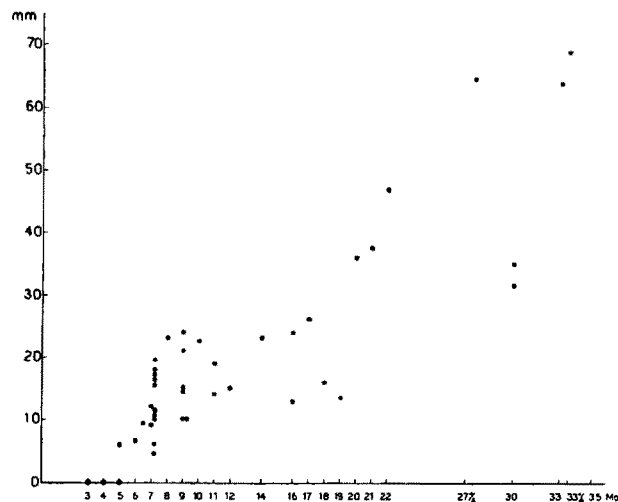
Nach dem 19. Monat und besonders bei 27–33 Monate alten Tieren tritt bei derselben Temperatur eine weit stärkere thermische Kontraktion ein. Sie kann bis 43% der ursprünglichen Länge betragen.

In Abbildung 1 ist die Verkürzung von Sehnen von 40 verschiednen alten Tieren in mm des Hebelausschlages wiedergegeben. (Die tatsächliche Verkürzung ergibt sich durch Division mit der Hebelvergrösserung von 9,5.)

Wenn man bei Eintritt der Verkürzung sogleich wieder abkühlt, so ist die Kontraktion nur teilweise reversibel. Bei Wiedererwärmung verkürzt die Sehne sich nicht wieder und reisst schliesslich zwischen 66 und 76°C.

¹ D. A. HALL, R. REED und R. E. TUNBRIDGE, Nature 170, 264 (1952).

Die thermoelastische Kontraktion von Sehnen ist seit GOTSCHLICH¹ und WÖHLISCH² bekannt. An den Sehnen des Rattenschwanzes sah sie PARTRIDGE³. Nach BANGA⁴ und HALL, REED und TUNBRIDGE⁵ ist in der Sehne Elastin in einer amorphen Zementsubstanz eingebettet. Dieses Chondromukoid spielt bei der Wärmekontraktion keine Rolle. Dieselbe spielt sich am Elastin («F-Elastin»⁴, «Proelastin»⁵ bzw. am Collagen) ab.



Thermoelastische Kontraktionen von Sehnen aus dem Schwanz von Ratten bei 64–66°C. Ordinate: Hebelbewegung in mm. Vergrösserung 9,5fach. Länge der Sehne 15 mm. Abszisse: Alter der Tiere in Monaten.

Unser Befund weist darauf hin, dass sich am «Elastin» beim Altern charakteristische strukturelle Veränderungen entwickeln, deren weitere Untersuchung im Gange ist.

Die Versuche wurden von Frl. ELISABETH HEITZ ausgeführt.

F. VERZÁR

Physiologisches Institut der Universität Basel, den 2. April 1955.

Summary

Tendons of the tail of white rats show a thermoelastic contraction after the fifth month of age which appears suddenly at 64–66°C. It is not seen in animals of 3–4 months old. After the nineteenth month, and especially in 27 to 33 month old rats, this contraction becomes much increased. It is supposed that this phenomenon expresses changes in the structure of «elastin» in ageing animals.

¹ E. GOTSCHLICH, Pflügers Arch. 54, 109 (1893).

² E. WÖHLISCH, Z. Biol. 91, 137 (1931) usw.

³ S. M. PARTRIDGE, Biochem. J. 43, 387 (1948).

⁴ H. BANGA, Nature 172, 1098 (1953). – H. BANGA, J. BALÓ und D. SZABÓ, Nature 174, 788 (1954).

⁵ D. A. HALL et al., loc. cit.

Veränderungen der thermoelastischen Kontraktion von Haut und Nerv bei alternden Tieren

Nachdem gezeigt wurde, dass Sehnen mit zunehmendem Alter ihre thermoelastischen Eigenschaften ändern¹, haben wir dasselbe auch bei zusammengesetzten Ge-

¹ F. VERZÁR und E. HEITZ, Exper. 11, 230 (1955).

weben, an der Haut und am Nerven geprüft. Benützt wurde derselbe Rattenstamm und dieselbe Methode wie früher.

Zur Untersuchung der *Haut* wird mit einem scharfen Hohlstempel von 25×5 mm ein Stück aus der Rückenhaut ausgestanzt, zwischen Plexiglasklemmen an einem leichten Hebel befestigt, so dass ein 15 mm langes Stück frei wird. Es wird in mit Luft durchperlter Ringer-Tyrode-Lösung erwärmt.

In allen Altersklassen zwischen 3 und 33 Monaten tritt bei Erwärmung bis 60°C keine Verkürzung ein. Zwischen 64 und 66°C zeigen alle Hautstücke eine Kontraktion. Die Temperatur ist dieselbe wie bei den Sehnenfasern des Schwanzes¹, und man wird folgern müssen, dass es sich um eine Wirkung auf die elastischen Fasern der Haut handelt. Im Gegensatz zu den Schwanzsehnen zeigen bereits die 3–4 Monate alten Tiere die Verkürzung der Haut.

Abbildung 1 zeigt, dass diese bei 64 – 66°C entstehende Verkürzung mit zunehmendem Alter der Tiere grösser wird: von 5 mm Hebelausschlag im 3. Monat auf 28 mm im 22. Monat. Bei den zwei ältesten Tieren von 33 bis $33\frac{1}{2}$ Monaten nahm sie wieder ab, vielleicht als Ausdruck einer Atrophie der Haut.

Gegenüber der thermischen Verkürzung der Sehne zeigt sich, dass die Verkürzung in mehreren Stufen erfolgt. Bei 67 – 70°C tritt eine zweite Verkürzung ein. In der Abbildung 1 entspricht das dem zweiten höheren Punkt.

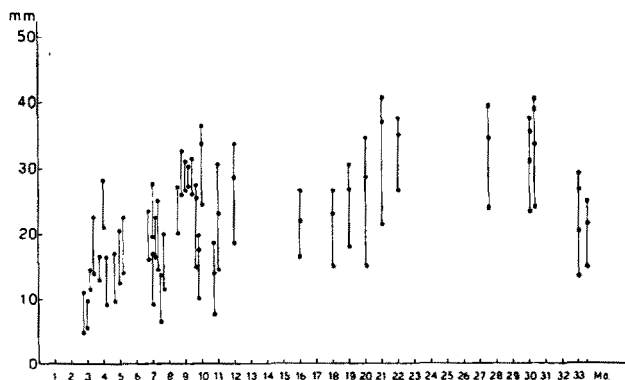


Abb. 1. Thermische Kontraktionen der Haut bei verschiedenen alten Tieren. Ordinate: Jede vertikale Linie entspricht einem Versuch. Der unterste Punkt ist die Verkürzung (Hebelausschlag in mm), welche bei der niedrigsten Temperatur entstand. Die darüberliegenden Punkte entsprechen den Verkürzungen, die bei den höheren Temperaturen stufenweise auftreten (siehe Text).

Abszisse: Alter der Tiere in Monaten.

Bis zum 9. Monat sahen wir nur diese zwei Stufen. Bei 10–27 Monate alten Tieren tritt noch eine dritte Verkürzung bei 74°C und bei 30–33 Monate alten Tieren noch eine vierte Stufe bei 81 – 82°C auf. Sie sind in Abbildung 1 ebenfalls übereinandergezeichnet. Die gesamte Verkürzung wird auf diese Weise von 12 mm im dritten Monat auf 41 mm im 21. Monat vergrößert. Dazwischen nehmen die Werte unregelmässig zu. Beim Altern treten also in der Haut neue Faktoren auf, welche eine thermoelastische Kontraktion ergeben. Allerdings sind die dabei auftretenden Verkürzungen bei Abkühlung nicht reversibel.

Auch der *Nerv* zeigt eine thermoelastische Kontraktion. Dabei spielt nicht die Bindegewebsscheide, sondern das eigentliche Nervengewebe eine Rolle, wie Dodt² ge-

zeigt hat. Der Nervus ischiadicus von Ratten wurde ebenso wie früher die Sehnen¹ untersucht.

Bei Tieren im Alter von 3 und 4 Monaten verkürzt der Nerv bei Erwärmung bis 92°C sich mit unserer Methode fast nicht. Dann reißt er.

Vom 4. Monat an treten die thermoelastischen Kontraktionen auf, jedoch erst bei einer Temperatur von 76 – 80°C . Der Hebelausschlag beträgt 5–12,5 mm, etwa 10% der Länge. Mit zunehmendem Alter ändert sich vorerst nichts. Erst bei 27,5 bis 33,5 Monate alten Tieren wird die Verkürzung grösser, bis zu 22,5 mm (Abb. 2).

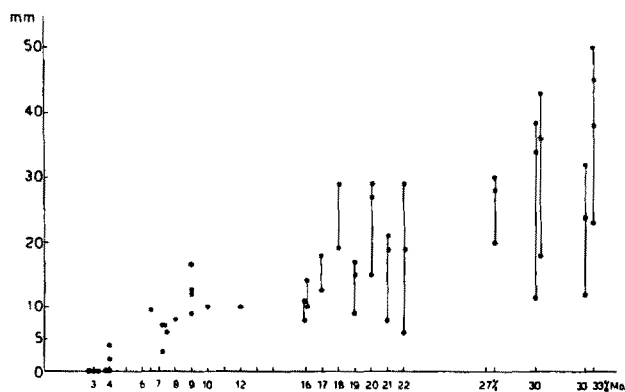


Abb. 2. Thermische Kontraktionen der Nerven bei verschiedenen alten Tieren. Abszisse und Ordinate wie in Abbildung 1.

Dagegen tritt ähnlich wie bei der Haut in zunehmendem Alter die Kontraktion in verschiedenen Stufen auf. Zwischen dem 16. und 33. Monat wird diese Erscheinung sehr auffallend, so dass die Gesamtverkürzung schliesslich 50 mm beträgt.

Im 16. Monat tritt die erste Verkürzung bei 76 – 80°C , die zweite bei 90 – 92°C auf. Bei 27 bis $33\frac{1}{2}$ Monate alten Tieren trat die erste Kontraktion zwischen 70 – 76°C , die zweite bei 76 – 82°C und die dritte bei 86 – 91°C auf. Gelegentlich erschien noch eine vierte bei 92°C . Auch die Reissfestigkeit erhöht sich. Oberhalb 16 Monaten reissen die Nerven bei dieser Methodik selbst bei 100°C nicht.

Nachdem die erste Verkürzung erst bei 76 – 80°C eintritt, kann es sich nicht um dieselbe Substanz handeln, wie in den Sehnen und der Haut. Das steht in Übereinstimmung mit dem Befund von Dodt².

Die mit dem Alter zunehmende Verkürzung bei noch höheren Temperaturen spricht dafür, dass auch im Nerven, ähnlich wie in der Haut, beim Altern qualitative Veränderungen entstehen. Sie spielen sich nicht am «Elastin» ab, sie schreiten jedoch in derselben Richtung wie in diesem und äussern sich in einer mit dem Alter zunehmenden thermischen Verkürzung.

Die Versuche wurden von Frl. ELISABETH HEITZ ausgeführt.

F. VERZÁR

Physiologisches Institut der Universität Basel, den 12. April 1955.

Summary

The thermo-elastic contraction which has been found to increase with age in the tendons, has been studied in the skin. This shows a contraction between 64 – 66°C similar to that of tendon fibres. In 22 month old rats, it reaches 5–6 times greater values than in 3 month old

¹ F. VERZÁR und E. HEITZ, Exper. 11, 230 (1955.)

² E. DODT, Exper. 11, 65 (1955).

¹ F. VERZÁR und E. HEITZ, Exper. 11, 230 (1955).

² E. DODT, loc. cit.

animals. The skin also shows a second contraction between 67 and 70°C. After the ninth month, in a continuously increasing degree, a third and fourth step of contraction appear at higher temperatures (up to 82°C).

The sciatic nerve also shows a thermo-elastic contraction after the fourth month at 76–80°C. This increases with age, and, as in the case with the skin, several more steps of contraction appear at higher temperatures, up to 92°C. It is improbable that these thermo-elastic contractions are related to «elastin». The changes with increasing age, however, show a similarity to the age changes of «elastin» in so far as the thermic contractility increases with age.

Vitamin Requirements of Decotylised Pea Seedlings Cultivated in the Dark

If the biosynthetic capacities of a decotylised pea seedling grown in darkness are compared with those of an excised pea root, certain differences can be observed. As has earlier been demonstrated¹, the seedlings, but not the excised roots, require arginine; glycine and adenine for optimum growth in an ordinary sucrose-mineral salt medium supplied with a mixture of water-soluble vitamins. Freshly excised roots on the other hand are quite unaffected by the three metabolites mentioned, and even in a vitamin-free medium they reach a length of at least 150 mm owing to the vitamin reserve present in the roots when excised. However, after one or two transfers of the root tips the growth comes to an end. Continued growth of the excised roots is made possible only by adding thiamin and niacin to the medium, in accordance with the observations of ADDICOTT and BONNER².

If decotylised pea seedlings are cultivated in a vitamin-free medium identical with that used for excised roots but containing arginine, glycine and adenine, the growth very soon stops, as does that of the shoot later. The main root usually does not exceed a total length of 100 mm. A closer investigation demonstrated that in this case the vitamins thiamin and pyridoxin are required, while niacin possessed a very weak or no effect (see table).

The effect of thiamin (B₁), pyridoxin (B₆) and niacinamide (Nic), each 100 µg/l, on the growth of decotylised pea seedlings ("Torsdag III" variety) cultivated in darkness at +25°C. Nutrient solution supplemented with arginine, glycine and adenine, each 0.3 mM, and solidified with 1.5% agar. Each culture tube contained 10 ml of nutrient medium. Incubation time 15 days. The original root length 31 mm. Ten plants, or roots, in each series. Further particulars of the cultivation technique published elsewhere³.

Experimental material	Vitamins added	Length in mm		No. of laterals per root system
		Shoot	Main root	
Decotylised plants	No vitamins	111 ± 3	84.7 ± 4.2	7.1
	B ₆ + Nic	114 ± 3	90.8 ± 3.6	8.6
	B ₁ + Nic	116 ± 3	91.4 ± 6.9	6.9
	B ₁ + B ₆	116 ± 1	123.0 ± 2.6	10.6
	B ₁ + B ₆ + Nic	113 ± 2	136.5 ± 2.5	11.2
Excised roots	No vitamins	—	134.0 ± 3.9	17.6
	B ₁ + B ₆ + Nic	—	142.4 ± 1.0	17.1

This shows that in darkness the shoot is not only unable to produce these vitamins, but also utilizes most of the vitamin reserve of the hypocotyl and the young root. The pyridoxin requirement may indicate a complete inability or at least an insufficient ability to produce pyridoxin in the shoot. The pyridoxin synthesising power of the root is obviously sufficient for maintaining the growth of the root but not for the combined requirements of root and shoot.

These observations, together with others made earlier¹, show that even under completely heterotrophic conditions the morphogenesis of the pea plant is accompanied by a differentiation into parts differing from each other as regards the ability to synthesise essential metabolites.

The investigation was supported by a grant from Eli Lilly and Co., Indianapolis.

N. FRIES

Institute of Physiological Botany, University of Uppsala, January 12, 1955.

Zusammenfassung

Abgeschnittene Erbsenwurzeln wachsen, wie schon frühere Untersuchungen gezeigt haben, unbegrenzt in einer Nährlösung mit Thiamin (Vitamin B₁) und Niacin als die einzigen zugesetzten Vitamine. Das konnte auch mit der in dieser Arbeit verwendeten Erbsenrasse bestätigt werden. Dekotylisierte Erbsenkeimlinge, die unter denselben Bedingungen in Dunkelheit kultiviert wurden, brauchten aber Thiamin und Pyridoxin (Vitamin B₆). Ein Bedürfnis von Niacin zeigte sich dagegen während der angewandten Versuchszeit bei diesen Keimlingen nicht.

¹ N. FRIES, *Physiologia Plantarum* 6, 292 (1953); *Symbolae Botan. Upsal.* XIII, 1, 1 (1954). — S. SAUBERT-V. HAUSEN, *Physiologia Plantarum* 1, 85 (1948).

Le potassium et le sodium de l'humeur aqueuse du lapin et leurs variations sous l'effet de l'acétazolamide (Diamox)

De récentes recherches ont démontré que la tension intra-oculaire s'abaisse, surtout en cas de glaucome, après l'administration d'acétazolamide (Diamox)¹. Cependant, le mécanisme de cette action n'est pas élucidé. On sait que l'acétazolamide est un inhibiteur spécifique de la carboanhydrase, ferment qui catalyse l'hydratation du CO₂ et peut favoriser la formation des bicarbonates. Or, le corps ciliaire contient de la carboanhydrase². De plus, l'humeur aqueuse présente un taux de bicarbonates assez important, supérieur à celui du sang³. Ainsi on peut se demander si l'abaissement de la tension intra-oculaire, sous l'effet du Diamox, n'est pas dû à une inhibition de la carboanhydrase du corps ciliaire, et si ce ferment n'influence pas la composition ionique et la pression osmotique de l'humeur aqueuse. Nous nous sommes donc proposé d'étudier l'action du Diamox sur certaines électrolytes de la chambre antérieure, notamment sur les taux du sodium et du potassium.

Matériel et méthodes. Nous avons utilisé 21 lapins de 2,5 à 3 kg, soumis à des conditions de vie identiques.

¹ N. FRIES, *Physiologia Plantarum* 6, 292 (1953); *Symbolae Botan. Upsal.* XIII, 1, 1 (1954).

² F. T. ADDICOTT and J. BONNER, *Science* 88, 577 (1938).

³ N. FRIES, *Symbolae Botan. Upsal.* XIII, 1, 1 (1954).

¹ B. BECKER, *Amer. J. Ophth.* 37, 13 (1954).

² P. H. WISTRAND, *Acta Physiol. Scand.* 24, 144 (1951).

³ V. D. KINSEY, *A.M.A. Arch. Ophth.* 50, 401 (1953).