

verschwinden und die einzelnen Theile sich nicht mehr unterscheiden lassen. Die amyloide Substanz entsteht nicht durch Zusammenfliessen einzelner Körner, die vorher in den Elementen zerstreut sich bilden, sondern das Homogenwerden geschieht durch allmäliges Schwinden der früher gewesenen Trübung, wenn eine solche den normalen Elementen irgendwo eigenthümlich ist; wie zum Beispiel in der Leber. Die pathologische Substanz wird also aus dem Blute nicht als solche abgeschieden, da die alkalischen Lösungen derselben nicht diffundiren. Die amyloide Erkrankung ist also eine wirkliche Rückmetamorphose der Gewebe, welche eine Regeneration der Elemente ausschliesst. Die ungewöhnlich grosse Widerstandsfähigkeit der Substanz gegen Reagentien und Fäulniss macht die Vermuthung kaum zulässig, dass die einmal amyloid erkrankten Organe, wenn auch nur partiell, auf irgend eine Weise geheilt werden können.

## 3.

**Ueber den Farbstoff der Muskeln.**

Von Dr. W. Kühne.

Der Farbstoff der Muskeln ist bisher für etwas so Unwesentliches gehalten worden, dass kaum ernsthafte Untersuchungen darüber angestellt sind. Nur bei den Fischen, deren Muskeln meist ungefärbt sind, erregte das vereinzelte Vorkommen rother Muskeln einiger Arten, wie z. B. des Lachses (*Salmo Salar*) und der Lachsforelle (*Salmo trutta*), sowie die zu gewissen Zeiten (nach dem Laichen) erfolgende Entfärbung das Interesse, und wir verdanken diesem Umstände die Auffindung eines orangeroth gefärbten fettartigen Körpers, der Acide Salmonique von Valenciennes und Fremy, der aus den Muskeln auswandern und in die Lachseier übergehen soll. Aus dem ausgepressten Oele des Fleisches und aus dem Laiche soll die „Lachssäure“ mit ammoniakhaltigem Alkohol extrahirt und durch Neutralisation nach dem Entfernen des Alkohols

als ein in Aether lösliches Oel erhalten werden \*). Der Farbstoff der Muskeln, von welchem hier die Rede sein soll, ist ein wesentlich anderer, er bleibt den Muskeln zu allen Zeiten, kommt, beim Menschen und den meisten warmblütigen Thieren, wenigstens in gewissen Muskeln constant vor, und findet sich bei allen Wirbelthieren in einem Muskel immer, nämlich in dem des Herzens. Kölliker hat besonders darauf aufmerksam gemacht, dass dieser Farbstoff nicht den in den Muskeln enthaltenen Blutgefassen, sondern der Muskelfaser selbst angehört, dass er ein Bestandtheil der contractilen Substanz ist \*\*). Man sieht bekanntlich an isolirten blutfreien Muskelfasern die Farbe häufig sehr deutlich ausgeprägt, und man kann sich auch überzeugen, dass diese Farbe nicht immer gleich, bald hellroth, bald dunkelroth oder mehr bräunlich ist, während bluthaltige aber ungefärbte Muskeln, wie die weissen Muskeln vieler Vögel, der Psoas des Kaninchens, oder das Fleisch der Frösche und Fische ganz farblose Fasern besitzen.

Trotz des gleichen Farbstoffgehalts kann eine isolirte Muskelfaser unter dem Mikroskop die Farbe in sehr verschiedener Intensität zeigen und man macht sich schwerlich eine richtige Vorstellung von der normalen Muskelfarbe, wenn man Leichenmuskeln z. B. vom Menschen unter dem Mikroskop betrachtet. Beobachtet man dagegen frische isolirte Muskelfasern am besten vom Hunde, dessen Fleisch gewöhnlich sehr intensiv gefärbt ist, und zwar so, dass man die noch contractile Faser möglichst wenig durch Zerrungen zu Contractionen gereizt, in eine feuchte viel Luft fassende Kammer bringt, so erscheint die Faser von derselben Röthe, wie ein ganzer durchsichtiger noch lebender Muskel. Zum Vergleiche dient ein gegen das Licht gehaltenes noch zuckendes Zwerchfell. Schon beim Bedecken der mit Serum oder Kochsalzlösung von  $\frac{1}{2}$  pCt. benetzten Faser mit einem Deckglase erleidet diese Farbe eine leichte Veränderung, sie wird dunkler und dann allmälig wieder heller. Mit Hülfe Kellner'scher Mikroskope, die besonders geeignet sind, an sehr dünnen Präparaten Farbenunter-

\*) Vergl. Lehmann, Zoochemie. S. 491.

\*\*) Kölliker, Mikroskop. Anatomie. Bd. II. 1te Hälfte. S. 248 u. 249.

schiede zu erkennen, sieht man, dass die Muskelfarbe nicht über den ganzen Faserinhalt gleichmässig vertheilt ist, sondern dass röthere Streifen mit weniger rothen abwechseln. Die ersten entsprechen den der einfach lichtbrechenden Substanz zugehörigen Querstreifen, die letzteren denen der Sarcous elements; indessen ist der Farbenunterschied kein erheblicher. Wartet man nun, bis die contractile Substanz zu gerinnen beginnt, so rücken, bei freier Beweglichkeit der Faser, die Sarcous elements in der Längsrichtung aneinander, die Faser wird jetzt wieder heller, und kann bei dem Ausweichen des Muskelserums, das sich diffus durch die ganze Gerinnelmasse vertheilt, fast ganz farblos und dabei stark glänzend erscheinen. Kommt es durch Zerrungen oder Druck zum Auseinanderreissen des Gerinnsels, so entstehen nur von Muskelserum gefüllte Strecken im Sarkolemmmaschlauch, die dann von einer sehr intensiv gefärbten Flüssigkeit erfüllt sind, in welcher kleine Körnchen lebhafte Molecularbewegung zeigen. Das Hell- und fast Farbloswerden der Faser bei beginnender Starre röhrt ohne Zweifel nur von der allseitigen Verdeckung der gefärbten Theile durch die das Licht stark reflectirenden nicht gefärbten Sarcous elements her; die Farbe verschwindet bier aus denselben Gründen, aus welchen die Farbe verdünnten Blutes verschwindet, wenn man recht viel Glaspulver hineinwirft. Dass der Gerinnungsact nicht wesentlich ist für diese Erscheinung, sieht man sogleich, wenn eine Contractionswelle über die noch erregbaren Theile der Faser verläuft. Die Faser wird überall, wo die Querstreifen aneinander rücken, hell, weisslich, und gleich nach dem Auseinanderrücken wieder dunkel, röthlich, was dem Bilde einen ganz eigenthümlichen Charakter gibt. Während des weiteren Verlaufs der Todtenstarre treten aus den abgeschnittenen Faserenden zuweilen Tropfen einer roth gefärbten Flüssigkeit aus, die sich nicht selten längere Zeit ohne Vermischung in dem umgebenden Blutserum erhalten, auch untereinander sich stossen können, ohne zusammenzufließen. Hieraus erhellt, dass der Farbstoff der Muskein nach Ablauf der Todtenstarre im Muskelserum enthalten ist; das Gerinnel kann zwar, wenn es aus Kochsalzlösungen gefärbter Muskelfasern durch Wasserzusatz dargestellt ist, ziemlich stark gefärbt erscheinen, allein

diese Farbe ist schon durch einfaches Auspressen entfernbare, worauf ein farbloses Gerinnsel und aller Farbstoff im Muskelserum bleibt. Beobachtet man Leichenmuskeln mit vorgeschrifter Todtenstarre, oder nach deren Lösung, so ist das Bild ein ganz anderes. Hier ist in der Regel gar kein Wechsel der Farbenintensität nach den Querstreifen bemerkbar, sondern die ganze Faser ist entweder diffus hellrot, röthlichgelb oder schon mehr bräunlichgelb. Es scheint, als wenn sich das Muskelserum einen Weg in die Sarcous elements selbst, vielleicht zwischen die Dissiaklasten gebahnt habe, oder, wie wenn diese an Reflectionsvermögen verloren hätten.

Man hat nach dem Aussehen der Farbe der Muskeln schon früher angenommen, ihr Farbstoff sei identisch mit dem Blutfarbstoff, eine Annahme, die besonders von Köllicker vertreten wird, der die Muskeln durch Sauerstoff hellrot, durch Schwefelwasserstoff dunkel werden sah. Bestätigte sich diese Vermuthung, so war damit ein nicht unwesentlicher Bestandtheil für den Muskelstoffwechsel gefunden. Wir wissen nach allen neueren Untersuchungen, dass der Blutfarbstoff, das Hämoglobin, gerade die für die Sauerstoffabsorption und die Verwendbarkeit des Sauerstoffs zu Oxydationszwecken besonders wichtige Substanz ist, und mit der Auffindung des Hämoglobins in den Muskeln wäre deshalb zugleich ein vom Blute unabhängiger Sauerstoffträger im Innern der contractilen Substanz selbst gefunden.

Es lässt sich nun in der That leicht erweisen, dass die Muskeln der Hunde, der Kaninchen und der Meerschweinchen, die ich zu meinen Versuchen benutze, wirklich Hämoglobin enthalten. Für den Beweis, dass das gefundene Hämoglobin ein Bestandtheil der Muskeln ist und nicht von beigemischtem oder erst nach dem Tode in die Muskelfasern diffundirtem Hämoglobin herrührt, eignen sich am besten Kaninchen, weil man die ganz ungefärbten und die gefärbten Muskeln dieses Thieres mit einander vergleichen kann. Für das Studium des Verhaltens des Muskelfarbstoffs im Muskelserum eignen sich dagegen besser Hunde oder Meerschweinchen, deren Fleisch mehr Hämoglobin enthält.

Die Hauptaufgabe liegt anfangs in der Entfernung alles Blutes

aus den Muskelgefässen. Zu dem Ende wird am besten eine Carotis freigelegt, eine T-Canüle, wie sie zum Zweck der Messung des Blutdruckes am Kymographion benutzt wird, eingesetzt, und den Thieren durch Oeffnen des kleinen Messingstöpsels so viel Blut entzogen, als sie aus der Canüle verlieren; dann wird der Stöpsel wieder geschlossen und ein Hahn geöffnet, der die eigentliche Mündung der Canüle in Communication setzt mit einem Rohre, das zu einer auf und ab beweglichen, mit Kochsalzlösung von  $\frac{1}{2}$  pCt. gefüllten Gefäss führt. Hierauf werden sogleich die Jugular- und Cruralvenen, und endlich auch die Vena cava inferior geöffnet. Mit allmälig wachsendem und bis zu 4 Fuss HO steigendem Druck wird nun aus den Blutgefässen das Blut durch die Salzlösung verdrängt, indem man mehrere Litre durchfliessen lässt. Ich habe auf diese Weise das Blut so vollständig aus dem Körper entfernen können, dass nicht allein eine ganz farblose Salzlösung aus den Venen abfloss, sondern so, dass auch sämmtliche Muskeln des Thieres völlig blutfrei waren. Man erreicht diess nur dann, wenn die Injection unmittelbar auf den Verblutungsact folgt; lässt man dagegen so viel Zeit vergehen, dass sich Gerinnsel in den angeschnittenen Venen bilden können, so werden nur einzelne Theile blutfrei. Die Salzlösung hat zugleich die gute Eigenschaft, keine Diffusion von Hämoglobin aus den Blutkörperchen zu gestalten, wovon man sich leicht überzeugt, wenn man die ablaufende Flüssigkeit in grossen Glascylindern etwas stehen lässt. Die Blutkörperchen senken sich dann ziemlich vollkommen und die überstehende Lösung wird ganz farblos; auch sehen die Blutkörperchen des Bodensatzes zackig und geschrumpft aus. Bereitet man aus den am tiefsten gefärbten Rücken- und Schenkelmuskeln eines so behandelten Kaninchens ein Extract, indem man die mit der Scheere fein zerschittenen Muskeln mit dem gleichen Gewichte kalten Wassers behandelt, während man andererseits die beiden Mm. Psoas ebenso verarbeitet, so erhält man eine schön rothe Flüssigkeit und eine ganz farblose. Die erstere vor den Spalt eines Spectralapparats gebracht, zeigt sehr bemerkliche Absorptionen gewisser Theile des Spectrums, die zweite lässt das Spectrum ganz unverändert. Hieraus geht hervor, dass der erhaltene Muskelsaft keine

Bestandtheile der rothen Blutkörperchen, sondern nur die gefärbten Bestandtheile des Fleisches enthält.

Als ich das Zwerchfell eines Kaninchens, eines Hundes oder Meerschweinchens gleich nach dem Ausspritzen auf eine Glasplatte ausgebreitet vor dem Spalt des Spectralapparats befestigte, sah ich ausser den bekannten horizontalen durch den streifigen Bau des Muskels erzeugten Schatten im Spectrum 2 dunkle Absorptionsstreifen zwischen den Fraunhofer'schen Linien D und E auftreten, die, nach ihrer Lage zu den Theilstrichen einer vorher willkürlich eingeschobenen Scala, sowie nach direkter Vergleichung mit den Absorptionsstreifen, die mit einer verdünnten Blutlösung im zweiten Spectrum hervorgebracht wurden, genau mit denen des Hämoglobins übereinstimmten. Ganz dasselbe geschah, als ich den wässrigen Auszug der rothen Kaninchenmuskeln vor den Spalt brachte. Der Muskelfarbstoff zeigt also die von Hoppe entdeckten, von Valentin und von Stokes bestätigten Absorptionsstreifen des Hämoglobins. Die Uebereinstimmung dieser Streifen schliesst bekanntlich die Anwesenheit eines anderen ähnlichen Farbstoffs nicht mit absoluter Sicherheit aus, allein die Veränderungen, welche die Lichtabsorption in dem Muskelextrakt durch weitere Behandlungen erlitt, werden genügen, die vollständige Identität beider Farbstoffe zur Genüge festzustellen.

Für die Sicherheit der Beobachtung habe ich in allen folgenden Versuchen bei einer beliebig gewählten Einschiebung der Scala, die Lagen der Fraunhofer'schen Linien zu dieser erst festgestellt, und zweitens beide Spectra übereinander beobachtet, indem ich die eine Flüssigkeit in einem sehr niedrigen Gefäss vor den unteren Theil des Spalts, die andere vor den oberen brachte, oder indem ich mit zwei Lichtquellen arbeitete und die eine Hälfte des Spaltes mit einem gleichseitigen Prisma deckte, das nur Strahlen einer Lichtquelle in den Apparat gelangen liess. Bei dem letzteren Verfahren können natürlich zwei Gefässer mit gefärbten Flüssigkeiten nebeneinander aufgestellt werden. Meist bediente ich mich cylindrischer Gefässer, die allerdings weniger zweckmässig, als solche mit planparallelen Wandungen, aber beträchtlich billiger sind. Zudem war ich bei Materialmangel häufig genötigt, die Dicke der

Flüssigkeitsschichten zu ändern, welchen Anforderungen durch cylindrische Gefässe verschiedener Weite leichter zu entsprechen war. Die Beobachtungen wurden nur theilweise mit Sonnenlicht, sondern häufig mit dem Lichte eines Argand'schen Gasbrenners angestellt. Das Spectrum dieser Flamme hat für diesen Zweck Vortheile vor dem Sonnenlicht, weil die Fraunhofer'schen Linien des Letzteren bei nicht hinreichender Auflösung durch den Apparat störend werden. Diess gilt besonders für Absorptionsstreifen, die der Linie C nahe liegen.

Die Einstellung der Scala war folgende.  $A = 5,3$ ,  $a = 5,6$ ,  $B = 5,8$ ,  $C = 6,3$ ,  $D = 7,1 - 7,2$ ,  $E = 9,2$  (das Fadenkreuz auf 9,3),  $b = 9,5$ ,  $F = 10,9$ ,  $G = 14,4$ . Als der rothgefärbte Muskelextract vor den Spalt des Apparats gebracht wurde, erschien im Spectrum ein Streif von 7,2 bis 7,6 reichend und ein zweiter von 8,2 bis 8,7. Der Muskelauszug mit überschüssigem farblosen Schwefelammonium versetzt gab einen einzigen breiten Schatten mit verwaschenen Rändern etwa von 7,3 bis 8,5 reichend. Nach dem Schütteln dieses wie verdünntes  $\text{CO}_2$ -haltiges Blut ausscheinenden Gemisches wurde es wieder hell, gelblichroth und gab jetzt wieder die Streifen von 7,2 bis 7,6 und von 8,2 bis 8,7. Ganz dieselbe Veränderung trat augenblicklich ein, als ich den Muskelauszug nach Stokes Verfahren mit einem Gemisch von Eisenvitriol, Weinstinsäure und überschüssigem Ammoniak versetzte. Auch hier trat der breite Absorptionsstreif des O-freien Hämoglobins auf, der nach dem Schütteln mit Luft wieder verschwand, während nun die beiden Streifen des O-haltigen Hämoglobins wieder erschienen. Ich versetzte jetzt den schwach sauren Muskelauszug mit etwas Ammoniak und leitete längere Zeit einen Strom von Koblenoxydgas hindurch, worauf die Farbe unverkennbar die charakteristische noch in grossen Verdünnungen erkennbare Nuance verdünnten CO-haltigen Blutes annahm. Dieser vor den Spectralapparat gebracht zeigte eine sehr geringe Verschiebung des bei D liegenden Streifens nach E hin, die für beide Grenzen etwa die Hälfte eines Scalentheiles betragen mochte. Als ich die Flüssigkeit jetzt mit Schwefelammonium, und eine andere Probe mit der ammoniakalischen Eisenoxydullösung versetzte trat auch nach längerer

Zeit keine Veränderung an den Absorptionsstreifen auf. Eine grössere Menge der Muskelflüssigkeit mit überschüssiger Essigsäure versetzt, zeigte den Absorptionsstreifen des Hämamins in saurer Lösung = 6,0—6,6 und als diese Lösung wieder mit  $\text{NH}_3$  übersättigt wurde, bis der anfangs entstandene Niederschlag sich wieder gelöst hatte, zeigte die alkalische Lösung, in etwas dickerer Schicht angewendet, einen breiten matten Absorptionsstreif von 6,4—7,0, ganz so wie das Hämamin in alkalischer Lösung. Die saure Lösung verdeckte das Spectrum nach dem Violet hin von 8,0 an, die zweite von 8,9 an. Auch diese Absorptionsstreifen sind bekanntlich von Hoppe entdeckt. Man ist nun noch im Stande, mit der ammoniakalischen Hämaminlösung eine weitere Probe vorzunehmen, indem man dieselbe nach dem Versetzen mit ammoniakalischer Eiseoxydullösung wieder auf ihre Lichtabsorption untersucht. Als diess mit der genannten aus Muskeln bereiteten Lösung geschehen war, zeigte dieselbe einen Streifen, der zwischen 7,2 und 7,7 mässig dunkel, zwischen 7,7 und 8,1 tief dunkel erschien und einen zweiten schwächeren Streifen mit verwaschenen Rändern etwa zwischen 8,8 und 9,1. Diess sind die von Stokes gefundenen Streifen des reducirten Hämamins. Als ich die Lösung mit Luft schüttelte, verschwanden nicht allein diese Streifen, sondern auch der des Hämamins in alkalischer Lösung erschien nicht wieder. Von 9,2 nach dem Violet hin blieb das Spectrum verdeckt. Durch neuen Zusatz der Eiseoxydullösung wollte es auch nicht gelingen, die Streifen wieder zum Vorschein zu bringen. Die Parallelversuche mit dem Blute, sowie einige Versuche, die ich mit der v. Wittich'schen Hämaminlösung und einer Lösung von Häminkrystallen in Ammoniak anstellte, ergaben übrigens für den Farbstoff aus dem Blute ganz dasselbe.

Um in allen Punkten den Muskelauszug mit dem Hämoglobin und mit Blutlösungen zu vergleichen, habe ich auch noch das Verhalten zu  $\text{CO}_2$  und H untersucht. Zu diesem Zwecke wurde das Muskelextract vorher mit etwas kohlensaurem Ammoniak sehr schwach alkalisch gemacht, in ein mit Kautschukkappe und einmündenden Glasröhren versehenes cylindrisches Gefäss gebracht und vor dem Spectralapparate einem raschen  $\text{CO}_2$ -Strome ausge-

setzt. Die Lösung nahm sehr bald unter schwacher Trübung die Farbe des verdünnten  $\text{CO}_2$ -haltigen Blutes an und zeigte, nachdem die Trübung durch Filtriren entfernt war, bei erneuertem Zuleiten von  $\text{CO}_2$  den Streifen des O-freien Hämoglobins. Einige Luftblasen mit dem Munde in den Apparat geblasen genügten jedoch, um die ursprünglichen beiden Blutstreifen wiederkehren zu lassen. Ich habe diesen interessanten von Hoppe zuerst angestellten Versuch öfter mit Lösungen reinen mehrfach umkristallisierten Hämoglobins vom Meerschweinchen in Wasser sowohl wie in verdünntem Ammoniak sehr oft angestellt, und gefunden, was auch bei den Muskelauszügen geschieht, dass nämlich bei stundenlangem Durchleiten in die natürlich sehr verdünnte Lösung, zuletzt auch der Streifen des O-freien Hämoglobins schwächer und schwächer wird, bis er endlich ganz erlischt. Bläst man jetzt Luft in den Apparat, so kehren auch die ursprünglichen Streifen des O-haltigen Hämoglobins nicht wieder. Die Lösung zeigt jetzt trotz ihrer grossen Verdünnung einen Ton, welcher der bekannten bräunlichen Farbe des Blutes entspricht, das sehr lange mit  $\text{CO}_2$  behandelt wurde. Auch in den ganz reinen Hämoglobinlösungen setzt sich darauf ein langfaseriger ebenso gefärbter spärlicher Bodensatz ab, der unter dem Mikroskope aus sehr deutlichen in Essigsäure löslichen Fibrillen besteht. Durch diese Beschaffenheit unterscheidet sich der Niederschlag sehr bestimmt von den nur in unreinen Hämoglobinlösungen durch  $\text{CO}_2$  entstehenden sogenannten Globulinniederschlägen. Die Farbe der langfaserigen Niederschläge ist theilweise ohne Zweifel von Hämatin bedingt, denn eine Lösung derselben in Ammoniak liefert den Absorptionsstreifen alkalischer Hämatinlösungen (s. unten).

Im Widerspruche gegen frühere Annahmen, kann ich schliesslich noch anführen, dass der Farbstoff des Muskels sowohl wie der des Blutes durch einen Wasserstoffstrom selbst des chemisch gebundenen Sauerstoffs beraubt werden kann. Es wird nicht nöthig sein, zuvor die Frage zu discutiren, ob das Blut, welches nicht mehr die ursprünglichen Absorptionsstreifen, sondern nur den einen ungefähr zwischen diese fallenden breiten Schatten im Spectrum zeigt, wirklich O-frei sei, da es eben seines Sauerstoffs wohl so

gründlich beraubt ist, wie diess nur beim allersorgfältigsten Auspumpen in der Ludwig'schen Gaspumpe gelingt. In demselben Apparate, den ich vorhin anführte, leitete ich einen raschen Wasserstrom bei einer Versuchsreihe durch ein Muskelextract, bei einer anderen durch eine sehr verdünnte Lösung sehr reinen Hämoglobins vom Meerschweinchen. Das Wasserstoffgas war mit der allergrössten Sorgfalt gewaschen und trat vor und hinter dem am Spalte des Spectralapparats befestigten Gefässen durch 2 mit Silbernitratlösung gefüllte Flaschen, die jede Spur von Phosphorwasserstoff oder Schwefelwasserstoff anzeigen mussten. Die letzteren wurden mit schwarzen Hülsen umgeben und aus diesen nur zur Besichtigung von Zeit zu Zeit herausgenommen. Ausser diesen Prüfungsflaschen hatte das Gas zuvor eine alkalische Bleioxydlösung und ein langes Perlenrohr mit Silbernitratlösung zu passiren.

Da es einerseits bei diesen Versuchen darauf ankam, ganz reinen Wasserstoff zu verwenden, und andererseits doch ein sehr rascher Strom unter bedeutendem Druck entwickelt werden musste, so liess sich die Anwendung des unreinen Zinks, das allein hinreichend rasch die verdünnte Schwefelsäure zersetzt, nicht vermeiden. Die Prüfung durch Silberlösungen schliesst aber auch so jeden Verdacht auf andere reducirend wirkende Gase aus. In der That bedarf es nur eines 10 Minuten langen Durchleitens dieses Gases, um die Streifen des O-haltigen Hämoglobins im Spectrum verschwinden und zugleich den breiten Schatten des O-freien auftreten zu sehen. Eine sehr geringe Undichtigkeit der Apparate würde indessen den Versuch unmöglich machen; auch gelingt der selbe der niemals völlig zu beseitigenden Undichtigkeiten wegen nicht, wenn der Gasstrom zu langsam geht. Aus diesem Grunde kehren gegen Ende der Gasentwickelung die Streifen des O-haltigen Hämoglobins wieder, und selbstverständlich geschieht diess augenblicklich, wenn man irgendwo absichtlich eine Spur Luft in den Apparat dringen lässt. Obwohl ich stundenlang durch einen anhaltenden Wasserstoffstrom Hämoglobinlösungen O-frei erhalten habe, konnte ich jedoch niemals dieselbe Verfärbung, wie bei Anwendung der  $\text{CO}_2$ , eintreten sehen. Ich zweifle zwar nicht, dass sie schliesslich doch eintreten würde, da sie nach einigen Tagen

selbst in den reinsten verdünnten Hämoglobinlösungen ohne nachweisbare Veranlassung erfolgt unter Bildung derselben langfaserigen Flocken, wie beim Behandeln mit  $\text{CO}_2$ . Nicht bei dieser Gelegenheit will ich die Frage berübrun, wie es möglich sei, das Hämoglobin, dessen O-Verbindung wohl mit Recht für eine chemische Verbindung gilt, durch den Wasserstoff zu reduciren; die dunklen Wege, welche der Sauerstoff während dieser Prozesse wandelt, mögen bei anderer Gelegenheit beleuchtet werden. Es mag genügen hier das Factum anzuführen, da es einen neuen Beleg für die Identität des Muskelfarbstoffs mit dem Hämoglobin liefert.

Alle bis hierher angeführten Versuche wurden nur mit Muskelflüssigkeiten ausgespritzter Kaninchen vorgenommen, und kein Thier verwendet, dessen Psoas nicht zuvor auf die Entfernung jeder Blutspur untersucht war. Für die Versuche, das Hämoglobin in Krystallen aus den Muskeln darzustellen, verwandte ich der leichten Krystallisirbarkeit des Hämoglobins wegen, Meerschweinchen, bei welchen allerdings die für Kaninchen mögliche Controle des Blatausschlusses wegfallen musste. Vermuthlich dürfte für die Meerschweinchen die Angabe genügen, dass nur solche Muskeln verwendet wurden, deren Extracte keine Blutkörperchen unter dem Mikroskope erkennen liessen. Die Muskeln wurden fein zerhackt, das wässrige Extract mit kohlensaurem Ammoniak neutralisiert, und einzelne Tropfen auf Objectträgern der theilweisen Verdunstung überlassen. Als auf diesem Wege und auch mit dem nicht neutralisierten Extracte keine Ausscheidung von Hämoglobinkrystallen erreicht werden konnte, wurde eine grössere Menge eines sehr concentrirten Auszuges mit überschüssigem krystallisierten schwefelsauren Natron längere Zeit in die Kälte gestellt. Aber auch nach diesem Verfahren (Böttcher und Bursy) konnten keine Krystalle gewonnen werden. Durch die Beobachtung, dass kleine Mengen lackfarbenen Meerschweinchenblutes in grosse Mengen Muskelextract gebracht, ebenfalls nach keiner Methode Hämoglobinkrystalle lieferten, entmuthigt, habe ich nur versucht, aus den Muskeln die bekannten Teichmann'schen sogenannten Häminkrystalle, d. i. die Krystalle des salzsäuren Hämatins (Hoppe-Seyler) darzustellen. Diess gelingt bisweilen schon an einer kleinen Probe

an der Luft verdunsteten Muskelextracts beim Erwärmen mit wenig Chlorkalium und Eisessig. Sicherer gelangt man zum Ziele, wenn man die Muskelflüssigkeit ganz nach Rollett's Methode behandelt, mit viel kohlensaurem Kali fällt (alles Eiweiss wird dabei mitgefällt), den Niederschlag abfiltrirt, durch Drücken auf dem Filter die Flüssigkeit so viel als möglich zu entfernen sucht, in dünnen Schichten auf Glasplatten unter 60° C. trocknet, mit warmem absoluten Alkohol auszieht, dann mit überschüssiger Lösung von Weinstinsäure in absolutem Alkohol versetzt und das saure weinstinsaure Kali durch ein Filtrum entfernt. Beim Eindampfen des alkoholischen Filtrats in gelinder Wärme setzen sich Rinden ab, die aus schönen grossen Häminkristallen bestehen. Die ursprüngliche saure alkoholische Lösung, sowie die Lösungen der erhaltenen salzauren Hämatinkristalle in Essigsäure oder Ammoniak können vortrefflich zur spectralanalytischen Untersuchung dienen, die ich besonders mit einem aus Kaninchenfleisch erhaltenen Präparate mit denselben Resultaten, die oben angeführt wurden, vorgenommen habe.

Wässrige Lösungen des Hämoglobins aus Meerschweinchenblut, oder Lösungen die nur eine Spur kohlensaures Ammoniak enthalten, coaguliren bei 62 — 65° C., die des Hundebutes bei 61 — 65° C. Es ist schwer eine ganz scharfe Temperaturangabe hierüber zu machen, da die Coagulation mit einer äusserst feinen, langsam zunehmenden Opalescenz beginnt und erst nach sehr langer Zeit ganz beendet ist. Für die Bildung solider Flocken wird die Temperatur von 65° C. am wenigsten vom Richtigen abweichen. Jede Coagulation einer Hämoglobinlösung fällt mit einer Zersetzung desselben zusammen (Hoppe-Seyler), gleichviel ob Alkoholzusatz oder einfaches Erwärmen die Ursache sind. Das sicherste Mittel, diese Zersetzung zu erkennen, besteht wieder in der Untersuchung der Lichtabsorption. Sowie einmal eine Trübung aufgetreten ist, zeigt die Lösung nach dem Klären mit Aetzammoniak ausser den Hämoglobinstreifen in hinreichend dicken Schichten den Absorptionsstreifen des Hämatins in alkalischer Lösung. Für den Muskelsaft gilt nun dieses genau so, wie für die Hämoglobinlösungen, wenn er mit kohlensaurem Ammoniak schwach

alkalisch gemacht worden ist. Erhitzt man ihn bis auf 64 selbst  $65^{\circ}$  C., so zeigt das von den Gerinnseln getrennte Filtrat den genannten Absorptionsstreifen; doch sind Schichten von mehreren Centimetern Dicke für den Versuch erforderlich. Mittelst der verschiedenen Coagulationstemperaturen der Eiweisskörper des Muskelserums, und seines Farbstoffs, lässt sich eine theilweise Trennung von jenen erreichen. Bekanntlich coagulirt ein sehr grosser Theil des Eiweisses im Muskelserum schon bei Temperaturen, die unter  $60^{\circ}$  liegen, und diess ist selbst der Fall, wenn das Muskelserum vorher mit kohlensaurem Ammoniak alkalisch gemacht wird. Eine solche Lösung mehrere Stunden einer Temperatur von  $58^{\circ}$  C. ausgesetzt, liefert ein fast farbloses Gerinnsel, aus dem man durch Drücken auf dem Filter auch die letzten Anteile der imbibirten farbigen Flüssigkeit auspressen kann. Diese zeigt vor den Spalt des Spectralapparats gebracht immer noch die Absorptionsstreifen des O-haltigen Hämoglobins. Bei weiterem Erhitzen wird die Lösung wieder trübe, und wenn man sie nach einem Verweilen von etwa 15 Minuten in einem auf  $63^{\circ}$  C. geheizten Wasserbade, wieder filtrirt, so erhält man ein etwas schwächer gefärbtes Filtrat, während das schmutzig braunrothe Gerinnsel nun auch beim Auswaschen die Farbe nicht verliert. Gerinnsel und Flüssigkeit enthalten beide jetzt zersetzes Hämoglobin, was man an letzterer nicht allein aus der bräunlichrothen Farbe, sondern auch aus dem veränderten Spectrum entnehmen kann. In hinlänglich dicken Schichten vor den Apparat gebracht erzeugt sie jetzt ausser den von noch unzersetztem Hämoglobin herrührenden beiden Streifen zwischen D und E noch einen zwischen C und D, den des Hämatins in alkalischer Lösung. Wird der Versuch mit nicht alkalisirter Muskelflüssigkeit angestellt, oder diese angesäuert, so erhält man den noch weiter nach dem Roth hin liegenden Absorptionsstreifen des Hämatins in saurer Lösung. Es bedarf einer längeren Behandlung des Muskelsaftes bei einer Temperatur von  $65^{\circ}$  C., um die letzten Anteile des Hämoglobins in unlösliche Flocken zu verwandeln, entsprechend der ebenfalls ganz langsamem Coagulation, die auch an reinen Hämoglobinlösungen bei dieser Temperatur beobachtet wird. Die Coagulation dieser Substanz erfolgt

aber nie mit der Geschwindigkeit, wie die coagulabeler Eiweisslösungen, sondern sie ist erst die Folge einer langsam fortschreitenden Zersetzung des Farbstoffs, bei welcher vermutlich die coagulablen Körper erst neben den von Hoppe-Seyler entdeckten flüchtigen Säuren gebildet werden. Zur völligen Entfärbung der Flüssigkeit und dem Uebergange aller färbenden Bestandtheile in das Coagulat gelangt man übrigens nur unter gewissen Bedingungen, nämlich nur dann, wenn für eine äusserst schwache saure Reaction gesorgt wird. Etwas alkalische oder zu saure Lösungen werden erst ganz entfärbt, wenn die Temperatur bis zum Sieden gesteigert wird. Hieraus erklären sich nun auch die Veränderungen der Farbe eines kalten Fleischextractes beim Kochen, und die des Fleisches bei der Zubereitung als Nahrungsmittel. Der Farbstoff schlägt sich nicht auf den Eiweissgerinnseln nieder, wie man oft gemeint hat, sondern er coagulirt recht eigentlich selbst, und das Fleisch kann beim Braten oder Kochen nur dann das Aussehen des sogenannten garen Fleisches annehmen, wenn es längere Zeit einer Temperatur von  $65^{\circ}$  C. ausgesetzt worden ist. Im letzteren Falle hat es die Farbe des Hämatins, während es noch unzersetztes Hämoglobin enthält, so lange es noch roth, blutig oder roh aussieht. Da die Fleischflüssigkeit unter geeigneten Bedingungen bei  $65^{\circ}$  C., dem Coagulationspunkte des Hämoglobins, vollständig entfärbt werden kann, so darf man wohl zugleich schliessen, dass das Hämoglobin der einzige färbende Bestandtheil des Fleisches ist.

Besonders das vom Blute gereinigte Fleisch verliert bei längerem Liegen und in der Regel noch vor dem Eintritt der Fäulnis seine hochrothe Farbe, indem das Hämoglobin bei zunehmender Säuerung allmälig gerade so zersetzt wird, wie mit Milchsäure versetztes Hämoglobin. Mittelst der Spectralanalyse lässt sich in den Extracten solchen Fleisches, wie in dem durch längeres Stehen für sich veränderten Extracte ein Gehalt an Hämatin nachweisen. Welchen wesentlichen Anteil hieran die Anwesenheit der freien Säure hat, geht aus dem viel früheren Auftreten des Hämatins hervor beim Vergleiche eines der Säuerung überlassenen Extractes, mit einem anderen, dessen Reaction durch Zusätze von

wenig kohlensaurem Ammoniak schwach alkalisch erhalten wird. In dem Letzteren tritt die Missfärbung immer um Vieles später ein. In allen Fällen röhrt die gleiche Färbung, die man an isolirten Muskelfasern aus dem Fleische von Leichen unter dem Mikroskope wahrnimmt, von dieser Zersetzung her.

Das Hämoglobin, welches als ein in der Flüssigkeit lebender Muskeln gelöster Bestandtheil anzusehen ist, wird vermutlich bei den Oxydationsprozessen in der contractilen Substanz eine nicht unwichtige Rolle spielen, obgleich es für die Function derselben kein absolut erforderlicher Bestandtheil ist, da ja bei vielen Thieren hämoglobinfreie, ganz ungefärbte Muskeln vorkommen. Vollkommen genügend erklärt aber die Anwesenheit dieses Körpers die Farbenveränderungen, welche rothe Muskeln noch während des Lebens zeigen können, die hochröhre charakteristische Farbe, welche z. B. Muskeln mit CO vergifteter Thiere zeigen, und die tief-dunkelröhre venöse Farbe, welche in den Muskeln nach langdauern- den Contractionen bemerkbar wird.

Ich habe versucht durch die Lichtabsorption der Muskeln Aufschluss zu bekommen über die Veränderungen ihres O-Gehalts während der Thätigkeit. Das Zwerchfell warmblütiger und mit Salzlösung ausgespritzter Thiere zeigte sich hierzu ungenügend, da die Erregbarkeit dieser Muskeln zu rasch schwindet. Dünne und platte Muskeln von der Schildkröte entsprechen daher diesem Zwecke besser, allein es ist bei dem unbequemen Baue dieser Thiere nicht möglich sie vorher durch Einspritzungen von Blut zu befreien. Für die Untersuchung solcher Muskeln mit dem Spectralapparate liegt darin allerdings kein wesentlicher Nachtheil, denn die Absorptionsstreifen, welche sie im Spectrum zeigen, röhren wenigstens nach dem Verbluten nicht von den in den Gefäßen enthaltenen Blutkörperchen her, worüber das Ausbleiben der Absorptionsstreifen an ausgeschnittenen Streifen des Psoas verblute- ter Kaninchen, oder am Sartorius des Frosches hinlängliche Ge- wissheit gibt. Bei einem Versuche, den ich mit einem noch zuckenden dünnen und platten Muskel einer Schildkröte anstelle, sah ich anfangs die beiden zwischen D und E liegenden Absorptionsstreifen, so lange ich ihn zwischen Glasplatten, deren Ränder

durch in Kochsalzlösungen getränkte Papierstreifen getrennt waren, vor den Spalt des Apparates brachte. Als ich darauf den Muskel in dieser Lage andauernd mit Inductionsschlägen tetanisierte, war schon für das unbewaffnete Auge eine dunklere Färbung erkennbar, welcher auch der breite Schatten im Spectrum entsprach, der nun statt der beiden früheren Streifen erschien. Erst nach längerem Liegen an der Luft wurde der Muskel wieder hellroth und zeigte auch jetzt erst die ursprünglichen Absorptionsstreifen des O-haltigen Hämoglobins wieder; er hatte aber jetzt seine Erregbarkeit eingebüßt. Bei einem anderen Versuche, bei dem ich bedacht war den Zutritt der Luft möglichst vollkommen während des Tetanisirens auszuschliessen, trat der Absorptionsstreif des O-freien Hämoglobins schon auf, als ich den Muskel zwischen den Glasplatten presste, und auch hier machte derselbe erst nach längerer Einwirkung der Luft den beiden anderen Streifen Platz. Niemals sieht man etwas der Art an nicht mehr erregbaren Muskeln eintreten, deren Absorptionsvermögen für gelbes und grünes Licht weder durch Druck, Zerrung, noch durch Inductionsschläge verändert werden kann, und der Schluss ist desshalb wohl gestattet, dass die Farbenveränderungen, welche noch erregbare Muskeln zeigen mit den bei der Reizung und der Contraction stattfindenden chemischen Prozessen zusammenhängen. Durch die weitere Verwendung der Spectralanalyse wird es vielleicht möglich werden die Frage zu entscheiden, ob das Hämoglobin der contractilen Substanz nur durch die bei der Contraction gebildete  $\text{CO}_2$  O-frei wird, oder ob die Bestandtheile des Muskels den mit dem Hämoglobin verbundenen O verzehren.

Zum Schlusse kann die Bemerkung nicht unterdrückt werden, dass leider die beste Methode, die man bis jetzt für die Bestimmung der Blutmenge eines Thieres hatte, indem man den Farbstoffgehalt des Blutes nebst dem der zerhackten und extrahirten Gewebe zu bestimmen suchte, nur für solche Thiere brauchbar ist, deren Muskeln farblos sind.

---