

# **Zur Kenntnis des Galaktosidstoffwechsels (mit einem Beitrag zur Arteriosklerosefrage).**

Von

**Dr. Paul Kimmelstiel, Priv.-Doz.,**

Sekundärarzt am Pathologischen Institut der Universität Hamburg  
(Direktor: Prof. Dr. Th. Fahr).

Mit 6 Abbildungen im Text.

*(Eingegangen am 30. März 1931.)*

## **Inhaltsverzeichnis.**

- I. Einleitung.
    1. Kurze Zusammenfassung des bisher Bekannten.
      - a) Chemisch-Methodisches.
      - b) Physiologisches und Pathologisches.
    2. Problemstellung.
  - II. Eigene Untersuchungen.
    1. Systematische Lipoidanalysen an menschlichen Aorten.
      - a) Notwendige Voruntersuchungen.
      - b) Methodik.
      - c) Resultate.
      - d) Zusammenfassung der Befunde.
      - e) Folgerungen.
    2. Kaninchenversuche.
      - a) Versuchstechnik.
      - b) Resultate.
        - Chemisch.
        - Morphologisch.
      - c) Zusammenfassung.
      - d) Folgerungen.
    3. Kolloidchemische Versuche.
      - a) Methodik.
      - b) Resultate.
        - Reine Substanzen.
        - Zweifach-Mischungen.
        - Mehrfach-Mischungen.
        - Neue Lösungsreihe.
      - c) Folgerungen.
    4. Hämolyseversuche.
      - a) Methodik.
      - b) Resultate.
      - c) Folgerungen.
  - III. Epikrise.
- Schrifttumverzeichnis.

## I. Einleitung.

### 1. Kurze Zusammenfassung des bisher Bekannten.

#### a) Chemisch-Methodisches.

Galaktoside sind lipoider Körper, deren hervorstechendstes chemisches Merkmal der Gehalt an Galaktose ist. Sie sind zuerst von Müller<sup>1</sup> beobachtet, später von Thudichum<sup>2</sup> aus dem Gehirn isoliert und genauer untersucht worden. Thudichum nannte diese Körper ihrem Auffindungs-orte gemäß Cerebroside und dieser Name wird gemeinhin auch heute noch gebraucht. Es hat sich jedoch späterhin gezeigt, daß die „Cerebroside“ auch in anderen Organen vorkommen.

Wir kennen heute 3 verschiedene Individuen dieser Klasse von Stoffen: Das Phrenosin (Cerebron), das Cerasin und das Nervon. Die beiden ersten, durch Thudichum bereits genau bekannten Körper unterscheiden sich lediglich durch die Fettsäure. Im Phrenosin kommt sie als „Phrenosinsäure“, im Cerasin als „Lignocerinsäure“ vor. Beiden gemeinsam ist die Base Sphingosin und das Galaktosemolekül. Bei der großen Ähnlichkeit beider Körper (die Lignocerinsäure ist ein einfaches Oxydationsprodukt der Phrenosinsäure) wäre es zu bedenken, ob nicht möglicherweise im Ablauf des biologischen Geschehens Phrenosin und Cerasin überhaupt bloße Zustandsverschiedenheiten ein und desselben chemischen Individuums darstellen<sup>10, 11, 12, 13</sup> usw. Thierfelder<sup>66</sup> macht in seinem Buch über die Cerebroside genauere Angaben über das Mengenverhältnis von Phrenosin zu Cerasin und stützt sich dabei auf eine entsprechende Untersuchung von Klenk. Bei der außerordentlichen Verwandtschaft beider Stoffe und der Labilität ihres Verhaltens im lebenden Körper (s. später) ist das angegebene Verhältnis wohl mehr als ein zufälliges anzusprechen, das einen Augenblicksquerschnitt darstellt. Das Nervon (von Klenk<sup>65</sup> 1925 gefunden) unterscheidet sich von den beiden erstgenannten durch die Nervonsäure, die eine wesentlich andere Struktur als die Phrenosin- oder Lignocerinsäure besitzt.

Allen dreien sind jedoch charakteristische Löslichkeitsverhältnisse eigentümlich, die sie gemeinsam von anderen Lipoiden unterscheiden. Sie geben einige Farbreaktionen, die auf den allen dreien zukommenden Gehalt an Sphingosin und Galaktose beruhen. Die — in denaturiertem Zustand — spezifischen Löslichkeitsverhältnisse bieten die Möglichkeit zu weitgehender Isolierung und Darstellung der Körper<sup>3, 4, 5</sup>. Auch hat man versucht, vorwiegend auf diese Eigenschaften eine Mengenbestimmungsmethode aufzubauen, doch bleibt natürlich (neben anderen Eigenschaften) für die Charakterisierung der gewonnenen Stoffe immer der Gehalt an abspaltbarer Galaktose entscheidend. Deshalb beziehen sich die anderen Bestimmungsmethoden auf diese Tatsache, und sie haben sich auch vor allem deshalb als notwendig erwiesen, weil die Mengen

der Ausgangssubstanz, die zur gravimetrischen, präparativen Methode benötigt werden, zu groß sind und praktisch nur bei Gehirnuntersuchungen zur Verfügung stehen.

Den von *Noll*<sup>7</sup> und später von *Winterstein*<sup>8</sup> angegebenen Bestimmungsmethoden (Titration der abspaltbaren Galaktose) haften jedoch gewisse grundsätzliche Mängel an, so daß ich<sup>9</sup> dieser Frage noch einmal nachging und zu einer Bestimmungsmethode kam, die bei Benutzung verhältnismäßig kleiner Mengen und unter Umgehung der entscheidenden Fehlerquellen die Vornahme von Reihenuntersuchungen gestattet. Diese Methode — auf die sich die folgenden Untersuchungen aufbauen — beruht grundsätzlich auf der Bestimmung derjenigen Galaktosemenge, die aus dem alkoholischen Extrakt nach Vornahme der Hydrolyse frei wird. Wenn ich nun im folgenden von der erhaltenen Galaktosemenge entsprechend der Strukturformel auf den gesamten Molekularkomplex schließe, so erscheint es sinngemäß richtiger, nicht von „Cerebrosiden“, sondern schlechthin von *Galaktosiden* zu sprechen, wie das *Rosenheim* 1913 vorgeschlagen hat. Wir sprechen unter entsprechenden Bedingungen ja auch von „Phosphatiden“.

Es soll damit zum Ausdruck kommen, daß mit der Methodik nicht die chemisch definierten Cerebroside bestimmt werden, sondern alle diejenigen zu den Lipoiden gehörigen Körper, an die Galaktose gebunden ist, das erst durch Hydrolyse frei wird. Allerdings vermute ich, daß es sich zum großen Teil dabei um Cerebroside handeln wird.

#### *b) Physiologisches und Pathologisches.*

Außer im Gehirn finden sich die Galaktoside noch in einer Reihe anderer Organe. Man hat sie in der Niere<sup>14</sup>, Nebenniere<sup>15</sup>, Milz<sup>16</sup>, Hoden<sup>17</sup>, Aorta<sup>18</sup>, in dem Stroma der roten Blutkörperchen<sup>19</sup>, in der Eisbären-galle<sup>20</sup>, im Eiter<sup>21</sup>, in Pilzen<sup>22</sup> und im Eichenholz<sup>23</sup> gefunden.

Diese Zusammenstellung weist schon darauf hin, daß der Nachweis der Galaktoside in den verschiedenen Organen ein mehr oder weniger zufälliger war, insofern nämlich niemals systematisch in besonders darauf gerichteter Aufmerksamkeit nach dem Vorkommen der Galaktoside gesucht wurde, sondern sich der Befund nebenher ergab, ohne daß ein besonderes Gewicht darauf gelegt wurde.

Es sind jedoch auch Tatsachen zu verzeichnen, die geeignet sind, die Bedeutung der Galaktoside mehr in den Vordergrund zu rücken. So haben *Smith* und *Mair*<sup>24</sup> gefunden, daß bei der Entwicklung des Gehirns mit der Zunahme der übrigen Lipide in besonders ausgeprägtem Maße auch die Galaktoside ansteigen. Dabei ist jedoch zu bedenken, daß der wöchentliche Zuwachs wesentlich größer ist als der Gehalt an Lipoiden in der gleichzeitig zugeführten Milch, so daß an der Synthese

der Gehirnlipide im Körper nicht gezweifelt werden kann. Auch von *Singer*<sup>25</sup> und *Singer* und *Deutschberger*<sup>26</sup> sind Angaben über den Galaktosidgehalt im Gehirn (speziell auch von Paralytikern) vorhanden, doch scheint die Methode keineswegs einwandfrei, denn es wird nach *Thierfelder*<sup>27</sup> lediglich die reduzierende Substanz nach Hydrolyse in der Petrolätherfraktion bestimmt.

Auf dem Gebiete der pathologischen Physiologie sind es im wesentlichen 2 Befunde, die die Aufmerksamkeit auf die Galaktoside richten. Einmal hat *Noll*<sup>7</sup> experimentell feststellen können, daß bei der Degeneration des peripheren Nerven in besonderem Maße auch die Galaktoside abgebaut werden, daß sie schon 14 Tage nach Durchschneidung des Nerven im distalen Abschnitt um etwa die Hälfte vermindert sind.

Auf der anderen Seite kennt man eine gewaltige, krankhafte Ansammlung der Galaktoside in der Milz beim Morbus Gaucher<sup>28, 29, 30</sup>. Hier soll es insbesondere die Cerasinfraktion sein, die vermehrt auftritt. Man hat keinerlei Vorstellung über das Entstehen dieser eigentümlichen Lipoidstoffwechselerkrankung.

Endlich soll noch auf die einmalige Feststellung *Schönheimers*<sup>18</sup> hingewiesen werden, der das Vorhandensein von Galaktosiden in der Aorta bei hochgradiger Atherosklerose beobachtete.

Hiermit sind unsere Kenntnisse über das Vorkommen und die Bedeutung der Galaktoside im wesentlichen erschöpft. Man begegnet allerdings in dem Schrifttum über die Morphologie der Lipide häufiger den „Cerebrosid“ befunden unter normalen und pathologischen Bedingungen, doch möchte ich mich auf diese Angaben nicht berufen, weil die Methodik der färberischen Lipoiddifferenzierung einer strengen Kritik nicht standgehalten hat (s. hierzu u. a. *Kaufmann* und *Lehmann*<sup>31</sup>).

## 2. Problemstellung.

Wenn man bedenkt, wie groß die Aufmerksamkeit ist, die man in neuerer Zeit den Lipoiden entgegengebracht hat, wie unübersehbar groß die Zahl der Arbeiten über Cholesterin und Phosphatide ist, so muß die Bescheidenheit auffallen, mit der die Galaktosiden beiseite stehen mußten. Es erweckt den Anschein, als seien sie für den Lipoidstoffwechsel von nur untergeordneter Bedeutung. Aber schon aus den wenigen angeführten Tatsachen ergibt sich, daß die Galaktoside höchstwahrscheinlich ein gewichtiges Wort mitzureden haben, wenn man ihnen nur mehr Beachtung schenkt. Es spricht hierfür ihre Verbreitung in Organen außer dem Nervensystem, ferner das vermehrte Vorkommen bei Atherosklerose in der Aortenwand, der rasche Abbau bei degenerativen Veränderungen des peripherischen Nerven und vor allem die gewaltige Ausschwemmung in die Milz beim Morbus Gaucher. Eine solch massenhafte Ansammlung im Reticulumapparat ist zwar für die Phosphatide

bekannt, aber für das Cholesterin — außer bei der *Handschen* Erkrankung — in so überragender Menge nur im Tierversuch. Die bloße Möglichkeit einer solch hochgradigen Anhäufung unter krankhaften Verhältnissen weist schon darauf hin, daß dieser Stoff auch unter normalen Verhältnissen nicht gleichgültig sein kann.

Es ist das auch schon daraus zu entnehmen, daß man bei der Untersuchung lebensfrischen, in flüssiger Luft aufgenommenen Gehirns schon nach ganz kurzer Zeit beim Stehenlassen des Gehirnbreies eine Abnahme der Galaktoside um etwa 10—15% beobachten kann<sup>32</sup>. Wir haben es hier also wohl mit der Störung eines Gleichgewichtes zu tun, das offenbar während des Lebens ein sehr labiles ist. Ob es von der Sauerstoffzufuhr abhängig ist, auf deren Mangel ja die Hirnfunktion außerordentlich leicht reagiert, steht noch nicht fest. Ich möchte zwar nach eigenen Versuchen glauben, daß der Galaktosidabbau hiervon unabhängig ist, doch stehen meine Befunde im Gegensatz zu denen *Wintersteins*.

Jedenfalls war nach alledem anzunehmen, daß entsprechend gerichtete Untersuchungen die Stellung der Galaktoside in ein anderes Licht rücken würden. Mit Hilfe der von mir ausgearbeiteten Methode war mir auch technisch dazu die Möglichkeit gegeben. Allerdings erschien es ratsam, die Untersuchungen nicht einseitig auf die Galaktoside zu beschränken, denn daraus hätte allzu leicht eine Überwertung der bisher unterwerteten Galaktoside entspringen können. Um von vornherein einen Vergleich zu den anderen Lipoiden ziehen zu können, habe ich jeweils auch die Phosphatide und das Cholesterin mitbestimmt. Freilich reicht auch das zu einem vollständigen Bild nicht aus, denn zum mindesten hätten die freien Fettsäuren, das Verhältnis des Cephalins zum Lecithin in Vergleich gestellt werden müssen, doch scheiterte das zunächst an äußeren Vorbedingungen. Vor allem war jedoch von vornherein klar, daß das einseitige Verfolgen der Galaktosidmengen eher zu Mißdeutungen als zu neuen Erkenntnissen führen mußte. Auf das Zusammenspiel der Lipoidarten in ihrem Gesamtkomplex muß ich später ausführlich zurückkommen.

Als erste Fragestellung wählte ich das Verhalten des Lipoidkomplexes (ich verstehe darunter vorläufig Cholesterin-Phosphatid-Galaktosid) in der Aortenwand bei verschiedenen Stadien der Atherosklerose. Die Aorta habe ich aus 2 Gründen zum Gegenstand der Untersuchung gemacht. Einmal deshalb, weil bei der Atherosklerose die Ablagerung großer Cholesterinmengen (und auch vermehrter Phosphatidmengen) bekannt war, und für eben einen solchen Fall die Mengenverhältnisse der Galaktoside von Bedeutung zu sein schienen. Zum anderen deshalb, weil vielleicht die Befunde einen Beitrag zur Frage der Entstehung der Arteriosklerose zu liefern vermöchten. Aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen haben sich dann folgerichtig die übrigen Versuchsreihen ergeben.

## II. Eigene Untersuchungen.

### 1. Systematische Lipoidanalysen an menschlichen Aorten.

#### a) *Notwendige Voruntersuchungen.*

Zunächst war es notwendig, sich darüber zu unterrichten, wie groß die postmortalen Veränderungen sind, die die Galaktoside erleiden, und ob ein Vergleich der Werte überhaupt möglich sei, die aus Leichenmaterial gewonnen waren. *Noll*<sup>7</sup> hatte bereits festgestellt, daß auch bei 3tägigem Stehen keine Abnahme zu verzeichnen war. Aber da ich mit einer anderen Methodik arbeitete, schien es ratsam, diese Versuche zu wiederholen. Sie wurden an 6 Meerschweinchengehirnen in der Weise angestellt, daß 3 Gehirne lebensfrisch in flüssige Luft geworfen, zerstampft und das gefrorene Pulver in Alkohol aufgenommen wurde. Die anderen 3 Meerschweinchen wurden getötet (durch Nackenschlag und durch Chloroform) und über 24 Stunden im Leichenkeller liegen gelassen, ehe die Gehirne auf die gleiche Weise behandelt wurden wie die lebensfrisch entnommenen. Es ergab sich, daß die Werte der Leichengehirne gegenüber den lebensfrischen ein Minus von 10—15% aufwiesen, die gleiche Abnahme also, wie sie nach meinen früheren Versuchen bereits nach 2 Stunden erreicht ist. Wenn man nun in Betracht zieht, daß nach der ersten raschen Abnahme der Wert lange Zeit (nach *Noll* sogar 3 Tage!) konstant bleibt, so ergibt sich daraus die Berechtigung zur quantitativen Analyse an Leichenorganen, wenn man des genannten Fehlers von etwa 10—15% eingedenk ist. Da aber dieser Fehler immer in der gleichen Richtung liegt, so ist jedenfalls unbedenklich eine Vergleichsmöglichkeit gegeben.

#### b) *Methodik.*

Es wurden wahllos Aorten von jüngeren und älteren Individuen untersucht, nur unter Ausschluß von Kinderaorten, weil sich leider zeigte, daß die absoluten Mengen für eine Doppelbestimmung regelmäßig zu klein waren. Die Aorten wurden vom anhaftenden Blut befreit und die Adventitia mit dem periaortalen Fettgewebe glatt von der Media abgezogen. Dann wurde aus mehreren Stellen zur mikroskopischen Untersuchung herausgeschnitten, der Rest mit einem Wiegemeßer fein zerhackt und bei etwa 45° unter warmem Luftstrom getrocknet. Das Material wurde dann in einem Mörser fein zerrieben, zur Gewichtskonstanz bei 50° und über Chlorcalcium getrocknet und im Soxhlet-Apparat mit Alkohol bis zur Erschöpfung ausgezogen. Eine Extraktion mit anderen organischen Lösungsmitteln hat sich als überflüssig herausgestellt. Insbesondere bietet auch die *Rosenfeldsche* Alkohol-Chloroformmethode keinen Vorteil (s. hierzu *Kumagawa-Suto*<sup>33</sup>). Der alkoholische Extrakt wurde in einem Heiztrichter heiß filtriert.

Grundsätzlich muß zur folgenden Methodik der Cholesterin- und Phosphatidbestimmung folgendes gesagt werden: Sie erscheint zu

den vielfältig angegebenen Möglichkeiten wesentlich exakterer Bestimmungsmethoden verhältnismäßig grob. Ich habe sie dennoch ihrer Einfachheit halber in dieser Form angewandt, weil ich von vornherein aller übrigen — im Ausgangsmaterial liegenden — Fehler wegen lediglich entsprechend große Unterschiede zu werten beabsichtigte. Im übrigen kam es ja vor allem auf einen bloßen Vergleich, der unter gleichen Bedingungen gewonnen wurde, an, und es hat sich gezeigt, daß der auf die angegebene Weise gewonnene Extrakt aus der Aortenwand auffallend wenig anorganische Verunreinigungen aufwies.

*Cholesterinbestimmung.* Von einem Teil wurde ohne vorherige Verseifung die colorimetrische Cholesterinbestimmung gemacht. Schwierigkeiten durch Farbunterschiede sind nur ganz ausnahmsweise entstanden, so daß ich mich nicht genötigt sah, die Digitoninmethode anzuwenden. (Bei den Extrakten von Kaninchenlebern, die später untersucht wurden, mußte ich, wie dann zu besprechen sein wird, anders vorgehen.)

*Phosphatidbestimmung.* In einem anderen Teil wurde nach Veraschung der anorganische Phosphor colorimetrisch mit Hilfe der Molybdänblaureaktion bestimmt. Die angegebenen Phosphatidwerte sind durch Multiplikation mit dem Durchschnittsfaktor 25 errechnet. Versuche und auch später angestellte Stichproben haben ergeben, daß die Phosphorwerte sich durch eine Reinigung des Extraktes mit Petroläther nicht verringerten. Deshalb glaubte ich nicht berechtigt, mich mit der einfachen Phosphorbestimmung im alkoholischen Extrakt begnügen zu können.

*Galaktosidbestimmung.* Die Methode, die ich zur Bestimmung der Galaktoside verwandte, habe ich bereits 1929 in der *Pregl-Festschrift* der „Mikrochemie“ veröffentlicht. Sie beruht, wie die oben angegebenen Methoden von *Noll* und *Winterstein* auf der Bestimmung der Galaktose, die durch vorsichtige Hydrolyse vom alkoholischen Organextrakt aus dem Galaktosidmolekül frei wird. Sie unterscheidet sich von den genannten Methoden grundsätzlich dadurch, daß eine sog. Anfangsbestimmung hinzugefügt wird. Wenn nämlich der Reduktionswert des salzsauren Hydrolysats (entsprechend umgerechnet) der Galaktosemenge, die im Galaktosid enthalten ist, gleichgesetzt wird, so ist damit die wechselnde Fehlerquelle der vielen reduzierenden Substanzen eingeschlossen, die noch außer der Galaktose in dem Extrakt enthalten sind. Die rationellste Methode wäre natürlich die, den Extrakt vorher so weit mit wasserfreien Lösungsmitteln zu reinigen, daß er praktisch frei von reduzierenden Begleitstoffen (z. B. Kreatinin) wäre. Wie mich aber wiederholte Versuche (besonders auch nach Abschluß der oben angeführten Arbeit) gelehrt haben, tritt durch die eigentümlichen Lösungsbedingungen der Galaktoside dabei immer ein Verlust ein, der natürlich bei den kleinen zu bestimmenden absoluten Mengen unbedingt zu vermeiden ist. Eine quantitative Trennung eines Lipoides aus einem Lipoidgemisch ist auf Grund der bloßen Lösungsverhältnisse in den verschiedenen organischen Lösungsmitteln je nach dem Ausgangsmaterial überhaupt nur in einer gewissen Annäherung möglich, und kommt meines Erachtens für Mikromengen nicht in Frage.

Deshalb habe ich die Methode so ausgestaltet, daß ich in dem ungereinigten alkoholischen Extrakt einmal den gesamten Reduktionswert nach vollzogener Hydrolyse bestimme und hiervon denjenigen Reduktionswert abziehe, der schon („am Anfang“) vor der Hydrolyse festzustellen ist. Diesen Wert bezeichne ich als „Anfangswert“. (In bezug auf die nähere Bestimmung der im einzelnen in Betracht zu ziehenden Fehler und der Bedeutung dieses Anfangswertes verweise ich auf meine diesbezüglichen Arbeiten <sup>32 a)</sup>).

Die Reduktionsbestimmung selbst wird nach der Methodik von *Hagedorn-Jensen* vorgenommen und die Errechnung der Galaktose nach einer für diesen Zweck aufgestellten Tabelle. Der auf diese Weise als Galaktose ausgedrückte Reduktionswert der Anfangsbestimmung wird von dem Hydrolysewert abgezogen und der Restwert gilt als diejenige Galaktosemenge, die Teilbestand des Galaktosids ist. Um zu dem Gesamtwert zu kommen, muß der Galaktosewert mit dem von *Thierfelder* errechneten Faktor : 4,6 multipliziert werden.

Für die Aortenextrakte mußte insofern eine Abänderung der Originaltechnik vorgenommen werden, als der Höchstwert der Hydrolysezeit (nicht wie dort angegeben 30 Minuten, sondern) bei 45 Minuten liegt.

Die so gewonnenen Werte wurden als Prozente des Trockengewichtes berechnet.

Von jeder Aorta wurde makroskopisch das Bild zu Protokoll genommen und histologisch wurde von jedem Stückchen eine Hämatoxylin-Eosinfärbung und eine Sudanfärbung ausgeführt.

### c) Ergebnisse.

Die gewonnenen Werte sind in der unten angegebenen Tabelle in der Weise angeordnet, daß ohne Rücksicht auf den organischen Befund und ohne Rücksicht auf die Galaktosid- und Cholesterinwerte die Phosphatidzahlen einfach in aufsteigender Reihe in gewisse ganz willkürliche Gruppen eingeteilt wurden, die sich um stufenweise erhöhte Mittelwerte anordnen. Aus den dazugehörigen Galaktosid- und Cholesterin-

Tabelle 1.

Nr.	Alter	Makroskopischer Befund	Phosphatid %	Galaktosid %	Cholesterin %
873	26	Geringe Lipoidfleckung	1,95	0,92	1,88
926	34	Geringe Lipoidfleckung	(1,05)	0,77	2,26
966	41	Geringe Lipoidfleckung	1,86	0,90	1,87
1159	44	Sehr reichlich feinste Fleckung	1,25	(2,47)	3,29
947	50	Geringe Lipoidfleckung	2,21	0,92	2,07
713	46	Fleckweise diffuse Intimaverfettung	2,33	1,03	2,64
872	38	Mäßig reichliche Lipoidfleckung	2,51	0,96	2,84
867	52	Geringgradige Lipoidfleckung	2,23	0,89	2,19
1101	59	Geringgradige Lipoidfleckung	2,19	1,05	3,69
717	61	Beginnende Atheromatose!	2,71	1,29	3,13
1102	70	Mäßig hochgradige Intimaverfettung	2,81	1,15	4,44
723	52	Leichte Intimaufleckung	2,94	(1,07)	2,32
949	55	Aortitis luica ohne Verkalkung, Ø Atherome	2,74	1,35	3,68
1168	62	Reichlich Lipoidflecke	2,72	1,26	3,30
1167	62	Reichlich Lipoidflecke	2,75	1,38	5,00
1158	74	Stellenweise Atherome	2,73	1,33	4,92
927	45	Atheromatose	2,70	1,10	4,75
987	61	Beginnende Atheromatose	2,93	(1,50)	4,08
722	53	Atheromatose	3,07	1,26	5,16
721	78	Atheromatose	3,29	1,33	6,91
708	75	Atheromatose	3,81	1,86	10,35
946	82	Atheromatose	3,50	1,43	6,89
986	68	Atheromatose	3,27	1,38	5,60
1127	75	Atheromatose	3,28	1,34	8,77



zahlen ist zunächst in großem Überblick zu erkennen, daß sie sich in durchaus gleicher Richtung aufwärts bewegen. Wenn auch hin und wieder Schwankungen vorkommen, so ist doch unverkennbar, daß die hohen, mittleren und niederen Werte zusammenfallen.

Wenn man aus den abgetrennten Gruppen die Mittelwerte zieht, so erkennt man, wie die folgende Tabelle zeigt, daß die Phosphatid- und Galaktosidwerte einigermaßen gleichmäßig ansteigen. Auch die Cholesterinwerte steigen zunächst um nicht wesentlich höhere Prozentzahlen an. Nur in der letzteren Gruppe fallen die übermäßig hohen Werte aus der Kurve heraus.

Tabelle 2.

Gruppe 1 = Nr. 873—1159

„ 2 = „ 947—1104

„ 3 = „ 717— 987

„ 4 = „ 722—1127

	Phosphatid	Galaktosid	Cholesterin
Zunahme in % von Gruppe 1 zur Gruppe 2	34,9	12,5	29,5
Zunahme in % von Gruppe 2 zur Gruppe 3	21,8	29,4	31,3
Zunahme in % von Gruppe 3 zur Gruppe 4	21,3	14,3	83,3

Es war der Natur der Sache entsprechend nicht anders zu erwarten, als daß große Unregelmäßigkeiten in der aufgestellten Reihe vorkommen würden, denn die „Fehlerquelle“ der unübersehbaren individuellen Besonderheiten ist gar nicht zu beseitigen. Trotz alledem ist die in der letzten Rubrik auftretende Steigerung des Cholesterinmittelwertes um 83% so sehr aus dem Rahmen alles übrigen herausfallend, daß ihr eine Bedeutung zuerkannt werden muß.

Wenn man nun die gefundenen Zahlenwerte in Vergleich setzt zu den morphologischen Befunden, so zeigt sich, daß die ungewöhnliche Steigerung der Cholesterinwerte offenbar mit der Atherombildung zusammenhängt. Denn es kann kein Zufall sein, daß in der willkürlich aufgestellten Reihe, die sich nur nach den Phosphatidwerten richtet, alle Aorten mit Atherombildung am unteren Ende zusammenstehen (eine unerklärte Ausnahme bildet Nr. 717). Ich habe daher Mittelwerte berechnet aus den Aorten ohne Atherome und aus solchen mit Atheromen ungeachtet ihrer Stellung in der willkürlichen Gruppenreihe und erhielt folgende Zahlen:

Tabelle 3. Durchschnittsprozentszahlen.

	Phosphatid	Galaktosid	Cholesterin
Aorten ohne Atherome . . . . .	2,28	1,04	3,00
Aorten mit Atheromen . . . . .	3,18	1,44	6,38
Zunahme in % . . . . .	39,5	38,5	112,8

Daraus wird das oben Gesagte noch deutlicher. Während Phosphatid und Galaktosid gleichmäßig zunehmen, steigt mit dem Auftreten der Atherome das Cholesterin um mehr als das  $2\frac{1}{2}$ -fache der Phosphatid- und Galaktosidwerte an.

*d) Zusammenfassung der Befunde.*

Die systematische Untersuchung menschlicher Aorten auf den Gehalt an Cholesterin, Phosphatiden und Galaktosiden hat folgendes ergeben:

1. Mit ansteigendem Phosphatid- und Cholesteringehalt steigt auch der Gehalt an Galaktosiden.

2. Die 3 Fraktionen des Lipoidkomplexes steigen zunächst ziemlich gleichmäßig an. Erst mit dem Auftreten von degenerativen Veränderungen in der Aortenwand (Atherombildung) ändert sich das Verhältnis, insofern bei gleichmäßigem Weitersteigen von Phosphatid und Galaktosid die Cholesterinwerte plötzlich in die Höhe schnellen.

3. Konnte ich in den Vorversuchen bestätigen, daß die Menge der Galaktoside beim Liegenbleiben des lebensfrisch entnommenen Gehirns um 10—15% sinkt. Es soll das entgegen den Zweifeln *Thierfelders*<sup>66</sup> betont werden.

*e) Folgerungen und Überleitung zum nächsten Abschnitt.*

Soweit man aus solcher Art angestellten Analysen überhaupt einen Schluß auf die mögliche Entstehungsweise der Arteriosklerose ziehen kann, stellt sich das Bild in der Weise dar, daß zunächst der gesamte Lipoidkomplex ohne Bevorzugung der einen oder anderen Fraktion in die Aortenwand eingelagert wird. Wenn dann mit fortschreitendem Krankheitsvorgang ein Zerfall der neugebildeten elastisch-hyperplastischen Intimaschicht eintritt, wird durch die veränderten lokalen Bedingungen das Cholesterin aus dem Lipoidkomplex ausgefällt oder es bleibt bei der Ausfällung des Gesamtkomplexes als das am schwersten angreifbare Lipoid liegen. Ich muß mich auf Grund der späteren Versuche ohnehin noch ausführlicher und kritisch mit der Atherosklerosefrage auseinandersetzen und begnüge mich hier mit dieser Andeutung.

Worauf es anzukommen scheint, ist einmal die Tatsache, daß der eingelagerte Lipoidkomplex nicht bloß das schon bekannte Cholesterin und Phosphatid enthält, sondern ganz dieselbe verwickelte Zusammensetzung aufweist wie im Gehirn und in anderen Organen, also auch Galaktosid (und möglicherweise auch andere Lipide) enthält. Zweitens aber ist von einem Überwiegen des Cholesterins im Beginne des Prozesses noch keine Rede, sondern es tritt erst bei fortgeschrittenem Zerfall offenbar als sekundäres Moment in Erscheinung. Man hat jedoch von jeher gerade dem Cholesterin die Hauptrolle bei der Entstehung der Atherosklerose zugesprochen und auf Grund eben diesen Gedankengangs hat man Kaninchen mit Cholesterin gefüttert und in der Tat

Krankheitsbilder erzeugt, die von vielen Forschern als grundsätzlich übereinstimmend mit dem der menschlichen Atherosklerose angesprochen wurden. Freilich ist diese Gleichheit ebenso oft angezweifelt worden.

Nach meinen oben angegebenen Untersuchungen lag es zunächst nahe, dem Cholesterin für den Beginn und die Entstehung der Atherosklerose die vorrechtliche Bedeutung abzusprechen, es in seiner Wertigkeit den anderen Lipoiden gleichzusetzen. Es war daher gegeben, das Verhältnis der Lipoidfraktion im Gesamtkomplex auch bei der experimentellen „Kaninchen-Atherosklerose“ zu verfolgen.

Einmal schien es nach den angegebenen Richtlinien überhaupt von Bedeutung zu sein, ob die Galaktoside die Bewegung der übrigen Lipide mitmachen würden, die wir durch die experimentelle Cholesterinverfütterung hervorrufen können. Zweitens erschien es mir wichtig, zu erfahren, ob die höheren Galaktosidwerte in atherosklerotischen Aorten durch innere Bedingtheiten des Lipoidkomplexes zustande kämen oder durch ein mehr zufälliges paralleles Ansteigen, etwa als Altersablagerung, die von dem eigentlichen arteriosklerotischen Prozeß unabhängig ist.

## 2. Kaninchenversuche.

### *a) Versuchstechnik.*

Eine größere Anzahl von 5—7 Wochen alten Kaninchen wurde täglich mit 10 ccm Sesamöl, in dem etwa 3% reines Cholesterin gelöst war, mit der Schlundsonde gefüttert. 5 ccm des Sesamöls enthielten nach der Veraschung nur eine eben erkennbare Spur Phosphor und nach der salzsauren Hydrolyse war keine vermehrte Reduktionskraft erkennbar: Es war also praktisch frei von Phosphatid und Galaktosid. 4 Vergleichstiere wurden mit reinem Triolein gefüttert, von denen leider nur eines nach 6wöchiger Fütterung zur Untersuchung gelangte, denn es mußten wegen erkennbarer Fäulnis (im Hochsommer) alle die Tiere verworfen werden, die länger als 12 Stunden tot im Stall gelegen hatten. Auf diese Weise gelangten lediglich 10 Tiere zur Untersuchung. Alle Tiere, die mit Cholesterinöl gefüttert wurden, starben zwischen dem 3. und 7. Tag, ohne daß der Sektionsbefund eine besondere Todesursache aufdeckte. Die Tiere bekamen schwere Durchfälle und Speichelabsonderung aus dem Maul und der Nase. Als Grund dafür möchte ich anführen, daß wohl die Tiere noch zu jung waren. Ich hatte gerade deshalb junge Tiere gewählt, weil es bekannt ist, daß gerade diese Tiere bei Eifütterung am schnellsten und sichersten eine Atherosklerose bekommen. Hier waren offenbar die Anforderungen, die an den veränderten Stoffwechsel gestellt wurden, doch zu groß. Aber wenn es auch nicht durch die Überstürzung der ganzen Vorgänge zu der Ausbildung einer „Atherosklerose“ kam, so konnten doch unbedenklich Vergleiche zur „Cholesterin-krankheit“ der älteren Kaninchen gezogen werden, denn auch hier werden

— wenn auch später — die Tiere krank und sterben vorzeitig. Zudem zeigt eine probeweise vorgenommene histologische Untersuchung, daß offenbar eine Lipämie erzeugt worden war. Deshalb habe ich mich trotz allem zur systematischen Untersuchung der Organe entschlossen.

Allerdings kam nur die Analyse der Leber und des Nierenextraktes in Frage, denn die übrigen Organe (Milz, Knochenmark, Nebenniere) waren bei den jungen Tieren zu klein. Die Organe wurden sorgfältig von Fett und Hilusgewebe befreit (an der Niere wurde mitsamt dem Hilusfett auch der größte Teil des weißlichen Markes entfernt), fein zerhackt und unter warmem Luftstrom getrocknet und weiterhin wie das Aortenmaterial behandelt.

Der alkoholische Extrakt wurde auf Cholesterin, Phosphatid und Galaktosid untersucht, bei dem reichlich vorhandenen Lebermaterial wurde auch eine Gesamtfettbestimmung gemacht.

*Cholesterin.* Die Methodik wurde insofern ein wenig abgeändert, als ein bestimmter Teil des warm filtrierten alkoholischen Extraktes zunächst auf dem Wasserbad eingedampft und im heizbaren Vakuum bei 50° zur vollständigen Trocknung gebracht wurde. Der Trockenrückstand wurde in reinem Petroläther (Siedepunkt 50—60°) aufgenommen, abzentrifugiert, und so 3mal mit wenig Petroläther ausgewaschen (diese Methode hat sich bei dem überaus feinen Niederschlag besser bewährt als die zuerst versuchte Filtration durch sog. Rapid-Analysentrichter, die mit Asbest beschickt waren). Dieser auch in der Kälte völlig klare, etwas gelbbraunliche Petrolätherextrakt wurde auf das gleiche Volum gebracht wie die Menge Alkoholextrakt, von dem ausgegangen war. Durch die Entfernung des in Petroläther unlöslichen dunkelbraunen Rückstandes war der Extrakt schon wesentlich heller geworden, jedoch für die Anstellung der colorimetrischen Probe immer noch zu stark gefärbt. Derjenige Teil des Petrolätherextraktes, der zur Bestimmung des Cholesterins dienen sollte, wurde wiederum zur Trockne gebracht, in Aceton aufgenommen, durch ein gewöhnliches Analysenfilter filtriert und der Rückstand mehrfach mit Aceton nachgewaschen. Es blieb dabei ein gelblichbrauner Rückstand, während das Aceton nunmehr fast farblos ist. Das Aceton wird abgedampft, der Rest zum vollständigen Trocknen gebracht und endlich in Chloroform aufgenommen, um die Farbreaktion anzustellen. Die Chloroformlösung weist manchmal noch eine Spur einer Gelbfärbung auf, die jedoch niemals so erheblich ist, daß eine Beeinflussung der smaragdgrünen Farbe zu erkennen ist, die immer ausgezeichnet mit der Farbe der gleichzeitig angesetzten Standardlösung zu vergleichen war. Es erübrigt sich, zu bemerken, daß die angestellten Doppelproben nicht bloß von ein und demselben Petrolätherextrakt, sondern auch von zwei verschiedenen Mengen des ursprünglichen alkoholischen Extraktes ausgingen.

*Phosphatide.* Im übrigen war der reinigende Umweg über Petroläther deswegen nicht mit Zeitverlust verbunden, weil sich bei Vorversuchen herausgestellt hatte, daß zur Bestimmung der Phosphatide ohnehin diese Reinigung unerläßlich war. Es zeigte sich nämlich, daß durch die Ausschaltung der im Petroläther unlöslichen Fraktion — gegenüber den Aortenextrakten — ein erheblicher Teil des Phosphors (durchschnittlich 20%) verloren ging. Der Lösungsbedingung der reinen Phosphatide entsprechend konnte dieser Phosphor nicht auf Phosphatide bezogen werden und mußte also eliminiert werden. Ohne hier auf eine Diskussion eingehen zu wollen, inwieweit es berechtigt ist, die Lösungsbedingungen der „reinen“ Lipide auf ein Lipoidgemisch anzuwenden, sollten doch dieser Untersuchung Werte zugrunde gelegt werden, die den augenblicklichen Forderungen der „Phosphatiddefinition“ in bezug auf ihre Lösungsverhältnisse entsprechen.

Die *Galaktoside* wurden nach Vorschrift wie bei den Aortenextrakten bestimmt.

Das *Gesamt fett* wurde nach Verseifung eines Teiles des alkoholischen Extraktes genau nach der Vorschrift von *Kumagawa* und *Suto*<sup>33</sup> ausgeführt. Eine direkte Verseifung der Lebersubstanz kam deshalb nicht in Frage, weil sonst kein Vergleich mit dem Lipoid möglich gewesen wäre.

*b) Ergebnisse.*

*α) Chemisch.*

Wenn man die Phosphatidwerte in ansteigenden Zahlen ordnet und sie mit den dazugehörigen Galaktosid- und Cholesterinwerten vergleicht, so ersieht man aus der folgenden Tabelle, daß auch hier die Galaktoside parallel ansteigen.

Tabelle 4. *Kaninchenlebern.*

Nr.	Phosphatid %	Galaktosid %	Cholesterin %	Gesamtfettsäuren %
8*	2,60	2,42	1,28	—
13	3,34	2,07	1,17	5,05
9*	3,82	2,22	1,21	5,77
10*	4,51	2,42	1,33	12,80
5*	5,16	2,22	1,19	9,95
8	6,22	2,55	1,45	8,36
5	6,42	2,85	1,91	5,22
6*	8,44	2,99	1,69	8,93
7	6,54	3,93	1,12	—
6	6,98	3,88	1,36	23,9

Tabelle 5. *Kaninchennieren.*

Nr.	Phosphatid %	Galaktosid %	Cholesterin %
8*	3,93	3,09	1,91
10*	4,11	3,44	2,12
5*	4,11	4,32	1,93
9*	4,62	3,51	2,09
6*	5,01	3,75	1,94
7	5,11	5,05	1,84
6	5,27	4,27	1,83
17	5,27	4,50	2,00
8	6,15	5,21	2,80

Es herrscht trotz kleiner Abweichungen (6\*) eine geradezu erstaunliche Übereinstimmung in der Richtung der Phosphatid- und Galaktosidkurve. Das Cholesterin verhält sich dazu etwas unregelmäßig. Immerhin ist (mit Ausnahme von Nr. 7 und 10) zu erkennen, daß auch hier die höheren Werte weiter unten in der Phosphatidreihe liegen. Wenn man (wie das angedeutet ist) 2 Gruppen bildet, so fallen zweifellos die niedrigen und hohen Cholesterinwerte mit dem zugehörigen Phosphatid- und Galaktosidwert in die jeweils entsprechende Gruppe. Zu weitgehenden Schluß-

folgerungen würde indes diese etwas mangelhafte Übereinstimmung nicht berechtigen, doch kann man die genannte Beziehung wohl ungezwungen ablesen. Ganz entsprechend verhält es sich bei den Nieren, nur daß hier die Bewegung der Cholesterinwerte innerhalb einer Breite von 10% liegen, die ich vorsichtshalber noch zur Fehlergrenze rechnen möchte.

Beim Vergleich der Leber- und Nierenwerte der entsprechenden Tiere fällt die etwas unvollständige Übereinstimmung auf, die jedoch durch mancherlei Umstände bedingt sein kann, die das unübersehbare Zustandsbild des jeweiligen Funktionszustandes des Organs hervorgerufen haben. Jedenfalls kann man (bezüglich der Phosphatid- und Galaktosidwerte) sicher ablesen: Die Tiere der 1. „Lebergruppe“ (8\*, 13, 9\*, 10\*, 5\*) gehören auch in die niedere „Nierengruppe“ (8\*, 10\*, 5\*, 9\*), und ebenso entsprechen die hohen Leberwerte auch den hohen Nierenwerten.

Um der Steigerung der Lipoidwerte in der angegebenen Reihenfolge einen zahlenmäßigen Ausdruck zu geben, habe ich aus dem Mittelwert der zusammengefaßten Zahlen die prozentuale Steigerung berechnet, die folgende Zahlen ergeben hat:

Tabelle 6.

<i>Steigerung der Leberwerte in Prozenten.</i>	<i>Steigerung der Nierenwerte in Prozenten.</i>
Phosphatid = 89 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	Phosphatid = 43 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Galaktosid = 83 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	Galaktosid = 53 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Cholesterin etwa 50 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	Cholesterin = Schwankung um 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> (Fehlergrenze).

Völlig überraschend waren die Werte für das Gesamtfett. Die wenigen Analysen, für die das vorhandene Material ausreichte, stehen in keiner Beziehung zu den Lipoidwerten, und ich hätte sie, da es sich um Einzelanalysen und nicht um Doppelanalysen handelt, nicht verwertet, wenn sie nicht mit den im folgenden zu besprechenden morphologischen Bildern in deutlicher Beziehung ständen.

### β) Morphologische Untersuchungen.

Von allen Tieren, deren Nieren und Leber einer Lipoidanalyse unterzogen worden waren, wurden auch von diesen zum Teil anderen inneren Organen Gefrierschnitte angefertigt, die mit Sudan gefärbt wurden. Es zeigte sich, daß in den Schnitten zum Teil außerordentlich reichlich gefärbtes Fett zu erkennen war, doch verlohnt eine genaue Wiedergabe der Einzelniederschriften deshalb nicht, weil es sich bei den verschiedenen Tieren nicht um qualitative Abweichungen, sondern immer nur um Gradverschiedenheiten desselben Befundes handelt. Diese Gradverschiedenheiten konnten nur abgeschätzt werden. Vor allem — und manchmal ausschließlich — fand sich das Fett im Lumen der Gefäße. Bei den hochgradigen Lipämien waren alle Gefäße mit einer tiefdunkelroten homogenen

Masse ausgefüllt, und dieser Befund war in allen untersuchten Organen des betreffenden Tieres zu erheben. Dazu kam in diesen Fällen in der Leber eine Speicherung von dunkelroten Fetttropfchen in den *Kupffer*-schen Sternzellen, doch war auch ein Fall hochgradiger Lipämie zu beobachten, bei dem keine Speicherung im reticuloendothelialen Apparat

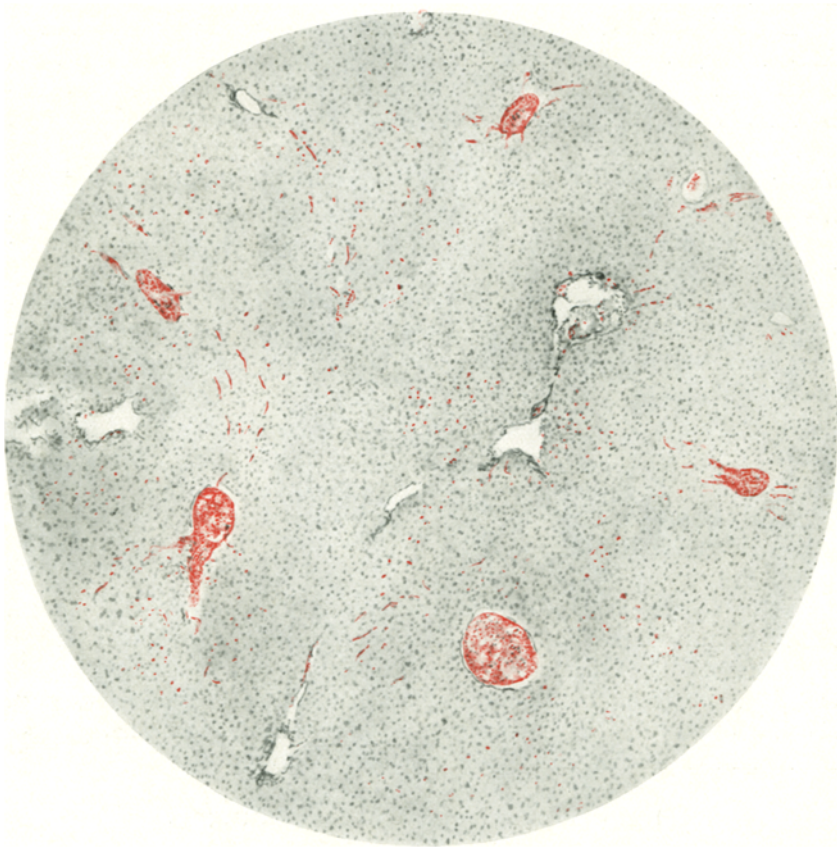


Abb. 1. Kaninchenleber. Sudanfärbung. Hochgradige Lipämie.

zu verzeichnen war. In den Leberzellen selbst war so gut wie nie Fett enthalten.

Wesentlich hochgradiger war die Verfettung in der Niere. Wenn hier die Gefäße mit fettdurchmischem Plasma gefüllt waren, so fand sich regelmäßig auch eine reichliche Aufnahme des Fettes in die Zwischenbindegewebszellen, aber auch zum Teil in erheblicher Weise in die Epithelien der Tubuli, und zwar nicht nur — wenn auch vorwiegend — in die im Mark gelegenen Abschnitte, sondern auch in alle in der Rinde

gelegenen Teile, auch in die basale Schicht der Epithelien der Hauptstücke, die ja physiologischerweise beim Kaninchen immer frei von Fett sind.

Je weniger hochgradig die Lipämie ausgeprägt ist, um so geringer ist auch die Menge des Fettes in den Zellen. Aber es ist natürlich schwierig,

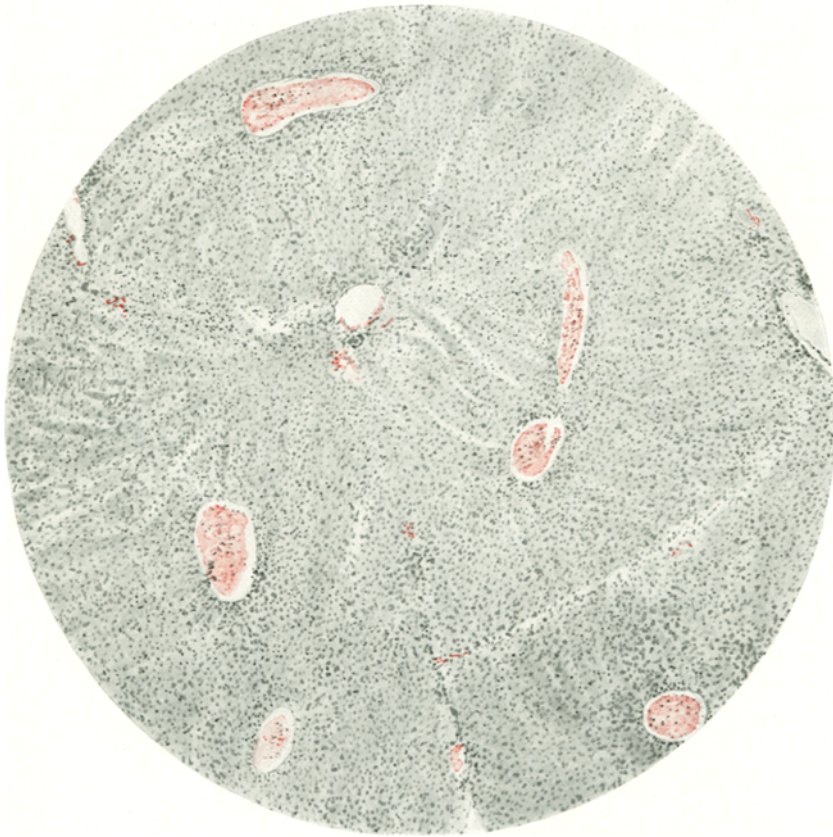


Abb. 2. Kaninchenleber. Sudanfärbung. Geringe Lipämie.

den Grad der Lipämie abzuschätzen. Denn auch, wenn sie geringer zu sein schien, war das Plasma in den Gefäßen mit Sudan gleichmäßig gefärbt, nur mehr heller, rosafarben, während einige Gefäße ganz frei davon waren. Nun kann die Rosafarbe einestheils durch die geringen Mengen des Fettes bedingt sein, sie kann aber auch dadurch zustande kommen, daß sich hier vorwiegend Lipoide und kein Neutralfett befindet. Wenn sich alle Übergänge zwischen histologisch hochgradiger („dunkelrotgefärbter“) — mäßig ausgeprägter — und völlig fehlender Lipämie



finden, so ist die Aufstellung einer solchen Skala streng genommen lediglich auf das Neutralfett zu beziehen. Einige Bilder versuchen die verschiedenen Grade der Lipämie zu verdeutlichen (s. Abb. 1—4). Bei dem Versuch, die auf solche Weise aufgestellte Reihe mit der Reihe zu vergleichen, die durch die chemischen Untersuchungen auf Lipide sich ergeben hatte, zeigte sich, daß keinerlei Beziehung bestand. Es kamen Fälle hochgradiger (morphologischer) Lipämie vor, die einen ganz

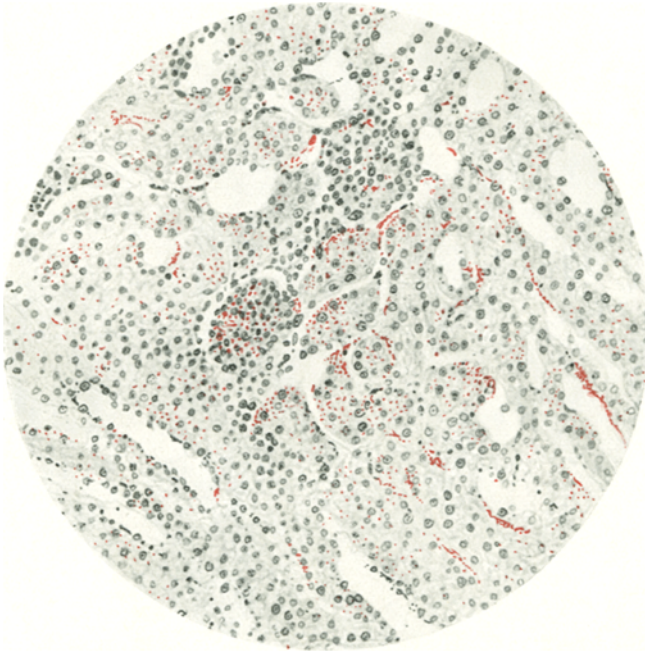


Abb. 3. Kaninchenniere. Sudanfärbung. Hochgradige Lipämie.

geringen chemischen Lipoidgehalt aufwiesen und umgekehrt. Dagegen bestand zweifellos eine eindeutige Parallelität zwischen den (wenigen) Gesamtfettwerten und dem histologischen Bild. Aus diesem Grunde also glaube ich doch, den Gesamtneutralfettwerten Glauben schenken zu dürfen. Es besteht somit — und das soll ausdrücklich betont werden — eine gute Übereinstimmung zwischen histologischem und chemischem Befund, soweit er sich auf Neutralfett bezieht.

Das Schrifttum über die Frage der Übereinstimmung zwischen histologisch nachweisbarem und chemischem Fettgehalt ist im Verhältnis zur Einfachheit der Fragestellung sehr umfangreich und zeigt vor allem die Unsicherheit der Technik. Sie ist im wesentlichen durch die Arbeiten *Rosenfelds* angeregt, der entschieden eine Übereinstimmung ablehnte

und sich auf den Standpunkt stellte, daß man aus den histologischen Befunden überhaupt keine Schlüsse ziehen könne. *Rumpf* und *Denstedt* und *Orgler* haben sich ihm angeschlossen, aber die Mehrzahl der Untersucher, die sich damit beschäftigt haben, sind doch zu übereinstimmenden Ergebnissen zwischen histologischen und chemischen Befunden gekommen<sup>34-41</sup>. Entscheidend scheint mir die Arbeit von *Shibata* und *Endo* zu sein, die auch zeigt, wodurch die Verschiedenheit der Meinungen

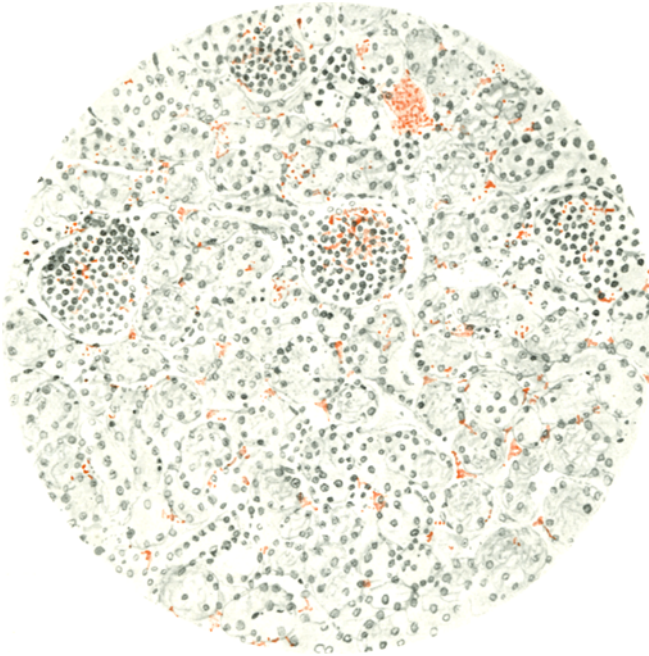


Abb. 4. Kaninchenniere. Sudanfärbung. Geringe Lipämie.

zustande kommt: Die Übereinstimmung bezieht sich nämlich nicht auf die gesamten in Alkohol löslichen Stoffe, sondern nur auf die gereinigten Fettsäuren. Weil ich nach eben der gleichen Reinigungsmethode verfahren bin, bin ich auch zu gleichem Ergebnis gekommen. Es soll jedoch damit ausdrücklich gesagt sein, daß die histologischen Befunde lediglich mit den zahlenmäßigen Werten der gereinigten Fettsäuren sich decken, keinesfalls aber mit den Lipoidwerten.

Es muß im Gegenteil betont werden, daß zu den chemisch bestimmten Lipoidmengen keine erkennbare Beziehung besteht. Diese Tatsache ist schwer erklärbar und kam völlig unerwartet. Allenfalls wäre noch aus physiologischen Gründen eine indirekte Proportionalität leichter erklärbar gewesen, unter der Annahme nämlich, daß ein Abbau der zugeführten

Neutralfette (im *Huecks*chen Sinne) und ein Aufbau der Lipaide erfolgt sei. Aber auch ein solches gegensätzliches Verhalten war aus den Befunden nicht ablesbar. So bleibt nur die Erklärung, daß es sich um Querschnittsbilder im Ablauf jener verwickelten Beziehungen zwischen Neutralfett und Lipiden handelt, die zu deuten schon wegen der Kürze der beobachteten Reihe nicht möglich ist. Denn an der Richtigkeit der erhobenen Befunde zu zweifeln scheint deshalb nicht geboten, weil sie sich gleichsam gegenseitig kontrollieren: Die Fettsäurewerte sind durch die histologischen Befunde gedeckt, die Lipoidwerte decken sich untereinander. Eine ähnliche Erfahrung hat auch *Kutschera-Aichbergen* <sup>42</sup> gemacht, der fand, daß die alkohollöslichen (ätherunlöslichen) Lipaide (bestehend aus Phosphatiden und Cerebrosiden) sich gerade entgegengesetzt verhalten wie die histologisch darstellbaren Lipaide.

#### c) Zusammenfassung.

Die chemisch-histologischen Untersuchungen von Leber und Niere der mit Cholesterinöl gefütterten Kaninchen hat folgendes ergeben:

1. Histologisch ist eine zum Teil hochgradige Fettvermehrung im Blutplasma und Aufnahme des Fettes in die Reticulumzellen der Leber und in die Kanälchenepithelien der Niere erkennbar.

2. Der Befund konnte in seinen histologisch abgeschätzten Ausmaßen chemisch bestätigt werden.

3. Andererseits ist in Leber und Niere eine Steigerung der Phosphatidwerte festzustellen, der eine ebenso starke Steigerung der Galaktosidwerte parallel geht.

4. Die Vermehrung des Cholesterins steht in der Leber hinter derjenigen von Phosphatiden und Galaktosiden erheblich zurück und ist in der Niere gar nicht zu erkennen.

#### d) Folgerungen und Überleitung zum nächsten Abschnitt.

Zunächst läßt sich ganz allgemein die oben aufgeworfene Frage beantworten, ob sich die Galaktoside an der Bewegung der übrigen Lipaide beteiligen, wenn man durch Cholesterinölfütterung eine Lipämie künstlich erzeugt. Wenn auch (aus äußeren Gründen) eine chemische Blutanalyse nicht vorgenommen werden konnte, so kann doch auf Grund des morphologischen Bildes unbedenklich von einer Lipämie bei den gefütterten Kaninchen gesprochen werden und dementsprechend ist also zu sagen, daß auch bei der künstlichen Lipämie die Galaktoside mit den übrigen Lipiden zusammen in Bewegung geraten. Auf die Bedeutung dieser Tatsache soll erst am Schluß dieser Arbeit eingegangen werden. An dieser Stelle muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß nach der Anlage der Versuche kein unbedingt sicherer Schluß daraus gezogen werden kann, ob sich das Ansteigen der Galaktoside bei Lipämie auf das Blut oder auf die Organe bezieht; diese Frage ist für die folgenden Erörterungen nicht

unwichtig. Es ist bisher nicht gelungen, eine Methode ausfindig zu machen für die Mengenbestimmung der Galaktoside im Blut. Deshalb mußte ich mich auf die Organe beschränken. Nach Art der Sachlage muß man jedoch den größten Teil der Lipoidsteigerung in den Organen meiner Versuchstiere auf den Gehalt an Lipoiden im Blut beziehen. Einmal der kurzen Versuchszeit wegen, dann aber auch wegen des morphologischen Befundes, der eine Aufnahme in die Zellen nur in verhältnismäßig beschränktem Umfang besonders in der Leber erkennen läßt. Andererseits ist es jedoch nicht zulässig, die Lipoidsteigerung allein auf das Plasma-lipoid zurückzuführen. Denn zweifellos ist nur ein Teil der Lipide überhaupt färbereich darstellbar, zum anderen findet sich ja auch in der Niere ein Teil des Fettes innerhalb der Zellen. In diesem Zusammenhang darf vielleicht darauf hingewiesen werden, daß die Lipoidsteigerung in Niere und Leber verschieden groß war. In der Leber, wo nur ganz spärlich intracelluläres Fett vorhanden war, betrug die Steigerung für Phosphatide und Galaktoside je etwa 86%, in der Niere jedoch, wo auch intraepitheliales Fett zu sehen war, stiegen die Phosphatide um 40%, die Galaktoside um 62%. Ohne daraus irgendwelche bindenden Schlüsse ziehen zu wollen, kann man diese Unregelmäßigkeit jedenfalls am einfachsten auf eine Beteiligung spezifischen Parenchyms am Umbau oder an der Ausscheidung der Lipide zurückführen. Schon aus diesem Grunde sind die erhobenen chemischen Angaben zum Teil auch auf das intracelluläre Fett und seinen Stoffwechsel zu beziehen.

An den erhobenen Befunden läßt sich natürlich die zweite oben aufgeworfene Frage ohne weiteres beantworten, ob nämlich das Ansteigen der Galaktosidwerte in der Aorta bei Atherosklerose einem inneren Zusammenhang der Fraktionen im Lipoidkomplex entspricht, oder ob es ein mehr zufälliges, durch andere Umstände bedingtes sei. Die Tatsache einer experimentellen Erzeugung eines Anstieges der Galaktoside durch Cholesterinölfütterung schließt im weitesten Sinne die Annahme eines gegenseitigen Abhängigkeitsverhältnisses der Lipoidfraktionen ein.

Wie aber kann man sich diese Zusammenhänge vorstellen? Erstens bestehen möglicherweise chemische Beziehungen zwischen den Lipoiden, zum mindesten auf dem Wege über die Neutralfette. Diesen Beziehungen konnte ich vorläufig aus äußeren Gründen nicht nachgehen. Auf die Schwierigkeiten, die hier in bezug auf die theoretische Deutung bestehen, komme ich später zurück. Dann aber spielen zweifellos auch die physikalisch-chemischen Eigenschaften der verschiedenen Körper eine große Rolle; denn es ist längst bekannt, daß sie sich z. B. in ihrer Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln weitgehend gegenseitig beeinflussen. Man weiß auch, daß Cholesterin und Lecithin infolge ihres verschiedenen elektrostatischen Verhaltens eine gegensätzliche biologische Wirkung ausüben, und hat infolgedessen der Aufrechterhaltung des Lipoidgleichgewichtes eine teleologische Deutung gegeben. Ohne an dieser Stelle

ausführlich darauf einzugehen, besteht doch die Tatsache zu Recht, daß die Mengenverhältnisse von Cholesterin-Cholesterinestern-Phosphatiden und Fettsäuren zueinander von hervorragendem Einfluß sind auf die kolloidale Löslichkeit, Dispersität, Phasenform der Fettsäuren (*Spanger* <sup>43</sup>), auf die Erhaltung der Protoplasmastruktur (*Degkwitz* <sup>44</sup>), daß z. B. das Verhältnis Cholesterin-Phosphatid-Eiweiß von entscheidender Bedeutung für die Struktur der roten Blutkörperchen ist usw. (*Bechhold* <sup>45</sup>). Hier gibt es eben eine Reihe von Tatsachen, die es gleichsam fordern, daß ein bestimmtes Gleichgewichtsverhältnis bestehen bleiben muß, wenn der kolloidchemische Zell- und Plasmabau aufrechterhalten werden soll. Wenn das Mengenverhältnis im lebenden Organismus gestört wird, z. B. durch Anreicherung des Cholesterins, so wird eben in der Tat durch Ausschwemmung (oder Neubildung) des Antagonisten, der Phosphatide, die ursprüngliche Gleichgewichtslage wieder hergestellt. Man hat die Richtung der elektrischen Ladung und die Hydrophilie bzw. Hydrophobie als maßgebende Faktoren angesprochen für die antagonistische Wirkungsweise von Cholesterin, Fettsäuren auf der einen Seite — Lecithin, Cephalin und einwertigen Seifen auf der anderen Seite. Das Gleichgewichtsverhältnis im Lipoidkomplex war am einfachsten nach der Formel hydrophob zu hydrophil aufzulösen.

In diese Formel passen jedoch die Galaktoside schlecht hinein. Wenn man durch Verfütterung von Cholesterinöl eine Lipämie und Cholesterinämie setzt, so ist die Phosphatidämie gleichsam eine theoretische Forderung. Das Ansteigen der stark hydrophoben Galaktoside müßte jedoch theoretisch das Gleichgewicht stören; es ist vielmehr — teleologisch gesprochen — nicht einzusehen, warum es bei der Steigerung des Cholesterins auch zu einer solchen eines weiteren hydrophoben Körpers kommt. Jedenfalls müßte die Stellung, die die Galaktoside im kolloidalen Lipoidkomplex einnehmen, geprüft werden, um zu sehen, an welche Stelle sie sich einfügen würden. Dieser Versuch wurde im folgenden unternommen.

### 3. Kolloid-chemische Versuche.

#### a) Methodik.

##### aa) Herstellung der Modell-Lösungen.

Es wurden zunächst kolloidale Lösungen von Cholesterin, Lecithin, Cephalin und Galaktosiden hergestellt. Für die Cholesterinemulsion wurde das reine *Mercksche* Präparat verwendet, für die Lecithinlösung „reines“ Ovolecithin (*Merck*), das allerdings einer weiteren Reinigung nicht unterzogen wurde, für die Cephalinlösung aus Gehirn selbst hergestelltes Cephalin. Einer Elementaranalyse ist dieses Präparat nicht unterworfen worden, aber es war durch seine besonderen Lösungsverhältnisse (für unsere Zwecke) hinreichend besonders gegenüber dem Lecithin charakterisiert. Hervorgehoben werden soll seine Unlöslichkeit in trockenem

Äther, in dem es sich sofort nach Zusatz eines Tropfen Wassers leicht löste, seine leichte Aufquellbarkeit in Wasser, in dem es sich bei leichtem Erwärmen spontan kolloidal löste. Es stellte ein kaum plastisches, trockenes, hellgelbes Pulver dar. Die Galaktoside waren gleichfalls selbst aus Gehirn hergestellt, und das Präparat ergab bei einer Analyse mit meiner Methodik eine Beimengung fremder Substanzen von sicher weniger als 2%.

Diese Präparate wurden in Alkohol gelöst, und zwar wurde auf das entsprechende Volum überall gleichmäßig bei einer Temperatur von etwa 70° aufgefüllt, der Temperatur nämlich, bei der die Galaktoside rasch in Lösung gingen. Nur bei dem Cephalin mußte ich mich mit einer gesättigten Alkohollösung begnügen, weil nur ein Teil in Lösung ging, während bei den anderen eine bestimmte (im einzelnen noch anzugebende) abgewogene Menge zur Lösung kam. Diese alkoholischen Stammlösungen wurden mit einer erwärmten Vollpipette unter Schütteln in heißes Wasser getropft und man erhielt so eine vollkommen homogene kolloidale Lösung, die auch über mehrere Wochen stabil blieb. Die Lösung wurde dann auf etwa die Hälfte ihres Volums über dem Wasserbad eingedampft, so daß sie praktisch frei von Alkohol war, und auf das entsprechende Volum Aqua dest. aufgefüllt. Es muß noch bemerkt werden, daß ich mir des Fehlers wohl bewußt bin, der durch das Eintropfen von Lecithin und Cephalin in heißes Wasser durch eine Veränderung der chemischen Struktur entstehen kann. Aber Vergleichsversuche haben mich gelehrt, daß für meine angewandten Untersuchungsmethoden ein Unterschied zwischen kalt und warm hergestellter Lösung nicht zu bemerken war (für Cholesterin und Galaktoside ist ja eine mögliche Verseifung nicht zu befürchten).

Dann wurden Mischlösungen hergestellt, derart, daß bestimmte Mengen der alkoholischen Stammlösungen in einen Erlenmeyerkolben pipettiert, eingedampft und auf das abpipettierte Volumen in einem Mischzylinder wieder aufgefüllt (z. B. 4 ccm Cholesterin plus 4 ccm Galaktosid plus 4 ccm Lecithin werden auf insgesamt 4 ccm gebracht). Diese Mischlösung wurde dann in heißes Wasser getropft.

Die fertigen alkoholfreien Lösungen wurden durch ein gehärtetes Filter filtriert.

#### bb) Angewandte Untersuchungsmethoden.

a) *Nephelometrische Vergleiche.* Um dem Trübungsgrad der Lösungen einen zahlenmäßigen Ausdruck zu geben, wurden sie nephelometrisch gegen die Cholesterin-stammlösung ausgewertet. Ich benutzte dazu ein Nephelometer, das von der Firma *Leitz* neu gefertigt in das Universalcolorimeter eingebaut ist und auch durch farbiges Glas einen Farbenunterschied weitgehend auszuschalten imstande ist.

β) *Messung der Oberflächenspannung.* Hierzu bediente ich mich der Abreißmethode, wie sie unter anderem auch von *Brinkmann* und *van Dam*<sup>45</sup> bearbeitet worden ist\*. Vor allem läßt sich mit dieser Methode ausgezeichnet kurvenmäßig

\* Schrifttum hierzu bei *v. Hahn*: Dispersoidanalyse im Handbuch der Kolloidwissenschaft 1928, Bd. 3, S. 472.

der Übergang der labilen in die stabile Oberflächenspannung verfolgen und wiederholte Messung der gleichen Lösung an verschiedenen Tagen unter gleichen Bedingungen geben bei guter Übereinstimmung eine weitgehende Sicherheit.

γ) Ich habe *Flockungsreihen* aufgestellt, um so einen Überblick über die Hydrophilie oder Hydrophobie der Sole zu bekommen und andererseits den gegenseitigen kolloidalen Schutz zu bestimmen. Es wurde je 1 ccm des Lipoidsols mit 1 ccm Salzlösung versetzt, geschüttelt und nach 15 Minuten abgelesen. Als Salzlösungen dienten: Kochsalzlösungen von 20—0,08% in Abstufungen.

Bariumchloridlösung: In den gleichen Konzentrationen, äquimolekular 1 : 10 verdünnt.

Aluminiumchlorid: In den gleichen Konzentrationen, äquimolekular 1 : 100 verdünnt.

δ) „*Serumschutz*“. Es wurde untersucht, welche Schutzwirkung menschliches Serum auf die verschiedenen Lipoidlösungen ausübt. Es wurde diejenige Menge Serum ausgewertet, die das Cholesterinsol bei der eben fallenden Aluminiumchloridkonzentration noch vor einer vermehrten Trübung (oder Ausflockung) schützt. Mit dieser Serummenge wurden gleichmäßig alle Lösungen versetzt und diejenige Konzentration des Aluminiumchlorids hinzugefügt, die ohne Serum gerade noch deutlich ausflockt oder eine deutliche Trübungsvermehrung ergeben hatte. Dann wurde nephelometrisch bestimmt, um wieviel trüber die Lösung nach Zusatz des Elektrolyten beim Vorhandensein von Serum geworden war, gegenüber der entsprechenden Kontrolle: Lipoidsol plus Serum plus Wasser.

#### b) Ergebnisse.

Im ganzen wurden 3 verschiedene Reihen angesetzt mit verschiedenen Konzentrationen. Die 3. Reihe war jedoch insofern anders hergestellt, als das Cephalin in wasserhaltigem Äther gelöst zuvor in Wasser gebracht und dann erst in das erhitzte Cephalinsol das Übrige hineingetropt wurde. Dadurch war mir die Gesamtmenge des im Wasser befindlichen Cephalins bekannt. Diese Reihe wurde jedoch nur auf ihre Flockung gegen Elektrolyte untersucht und diente nur zur Nachprüfung eines mir wichtig erscheinenden Befundes. Sie soll für sich aufgeführt werden. In der folgenden Tabelle ist angegeben, wieviel Prozent Lipide in den jeweiligen Wassersolen enthalten war (für Cephalin ist diejenige Menge angegeben, die darin enthalten wäre, wenn sich die abgewogene Ausgangsmenge ganz in Alkohol gelöst hätte. Sie wird daher mit einem „Weniger“-Zeichen versehen).

Tabelle 7.

	Reihe 1 %	Reihe 2 insgesamt %
1. Cholesterin . . . . .	0,08	0,19
2. Galaktosid . . . . .	0,08	0,38
3. Lecithin . . . . .	0,16	0,38
4. Cephalin . . . . .	< 0,08	< 0,38
5. Cholesterin + Cephalin . . . . .	< 0,16	< 0,57
6. Cholesterin + Galaktosid . . . . .	0,16	0,57
7. Cholesterin + Lecithin . . . . .	0,24	0,57
8. Cholesterin + Cephalin + Galaktosid . . . . .	< 0,24	< 0,95
9. Cholesterin + Cephalin + Lecithin . . . . .	< 0,32	< 0,95
10. Cholesterin + Lecithin + Galaktosid . . . . .	0,32	0,95
11. Cholesterin + Lecithin + Galaktosid + Cephalin . . . . .	< 0,40	< 1,33

## a) Reine Substanzen.

## aa) Nephelometrischer Vergleich gegen Cholesterinlösung.

Die Zahlen geben an, wievielmals trüber die Vergleichslösung ist.

Tabelle 8. *Trübungsgrad.*

	Reihe 1	Reihe 2
Cephalin . . . . .	0,0080	0,040
Lecithin . . . . .	0,0360	0,080
Galaktosid . . . . .	0,0625	0,550

*Ergebnis:* Je weniger trüb die reine Lösung ist, um so hochgradiger ist ihre Dispersität. In bezug auf den Dispersitätsgrad stehen also die Galaktoside zwischen Cholesterin und Cephalin-Lecithin. Bei gleicher Konzentration (Reihe 1) und bei gleicher Art der Herstellung ist er etwa 16mal so groß als der des Cholesterins.

## bb) Oberflächenaktivität gegen Wasser = 1.

Tabelle 9. *Oberflächenaktivität.*

	Reihe 1	Reihe 2	
		labil	stabil
Cholesterin . . . . .	1,09	1,04	1,89
Galaktosid . . . . .	1,00	1,03	1,66
Lecithin . . . . .	1,18	1,67	2,05
Cephalin . . . . .	1,15	1,67	1,77

*Ergebnis:* Die Herabsetzung der Oberflächenspannung, die Oberflächenaktivität ist zweifellos bei den Galaktosiden am geringsten. Die dynamische ist zwar nur wenig geringer als die des Cholesterins, doch werden die Unterschiede deutlicher, wenn man die Konsolidierung des Oberflächenhäutchens (stabile Oberflächenspannung) abwartet. Dann ist zwar eine erhebliche Herabsetzung der Oberflächenspannung gegenüber Wasser erkennbar, doch ist sie immer noch erheblich geringer als die des Cholesterins.

## cc) Flockung.

(Zusammenhängende Flockungstafel s. am Schluß von Kapitel 3, S. 436.)

Tabelle 10. *Flockung.*

	Reihe 1			Reihe 2		
	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>
Cholesterin . . . . .	0,32	0,32	0,08	0,63	0,63	0,08
Galaktosid . . . . .	0,16	0,16	0,16	0,16	0,32	0,32
Lecithin . . . . .	5,0	—	—	—	5,0	—
Cephalin . . . . .	—	+—5,0	+—1,25	—	+—0,32	1,25



*Ergebnis:* Die Galaktoside sind am leichtesten, d. h. bei den niedersten Konzentrationen von Elektrolyten ausflockbar und ihr Flockungstypus ist ganz rein der von Suspensionskolloiden, d. h. die Grenze des Flockungspunktes ist bei 2—3wertigen Kationen genau die gleiche wie die des einwertigen Natriums bei der 10- bzw. 100fachen Verdünnung der äquimolekularen Lösung. Das Cholesterin erscheint hiernach ein wenig hydratisiert, weil das 3wertige Aluminium stärker wirksam ist als das 2- und 3wertige Kation. Die Unregelmäßigkeiten bei Cephalin und Lecithin sind möglicherweise auf den Ladungssinn zurückzuführen.

#### dd) Serumschutz.

Die Serummenge ist eingestellt auf vollständigen Schutz des Cholesterins, das bei Zusatz von 1 ccm Aluminiumchlorid von 0,16% keine Trübungsvermehrung mehr gibt. Die folgenden Zahlen geben an, wieviel mal trüber die kolloidale Lösung plus Serum plus Elektrolyt ist als kolloidale Lösung plus Serum plus Wasser, in einer der Elektrolytlösung entsprechenden Menge.

Tabelle 11. *Serumschutz.*

	Reihe 1	Reihe 2
Lecithin . . . . .	—	0,83
Cephalin . . . . .	0,82	1,00
Galaktosid . . . . .	2,00	Flockung

*Ergebnis:* Bei einer Serumkonzentration, die das Cholesterin gegen Flockung zu schützen vermag, findet bei Galaktosid eine starke Trübung (bei stärkerer Konzentration eine völlige Ausflockung) statt, während auffallenderweise beim Cephalin sogar eine Aufhellung zu bemerken ist. Es ist noch dazu zu sagen, daß auch die Zugabe großer Serummenngen das Galaktosid nicht zu schützen imstande ist. In dem angegebenen Versuch wurden 0,5 ccm einer Serumverdünnung 1:400 benutzt. Selbst die Zugabe von 1 ccm unverdünnten Serums konnte die Aufhellung resp. vermehrte Trübung nicht verhindern!

*Gesamtergebnis:* An den kolloidalen Lösungen der reinen Substanzen ist folgender Befund zu erheben: Die Galaktoside sind von allen Lipoiden am geringsten hydratisiert und haben die geringste Oberflächenaktivität. Dagegen sind sie in Wasser viel leichter und feiner zu dispergieren als Cholesterin. Keines der angewandten Lipoide wird von den Serumkolloiden so schlecht geschützt wie gerade die Galaktoside.

#### β) Zweifach-Mischungen.

aa) Nephelometrischer Vergleich gegen eine Cholesterinlösung.

Die Zahlen geben an, wieviel mal trüber die Vergleichslösung ist.

Tabelle 12.

	Reihe 1	Reihe 2
Cholesterin . . . . .	1,000	1,000
Cholesterin + Cephalin . . . . .	0,175	0,211
Cholesterin + Galaktosid . . . . .	0,196	0,800
Cholesterin + Lecithin . . . . .	0,263	0,400

*Ergebnis:* Trotzdem das Galaktosid ein so stark hydrophober Körper ist, wirkt er doch gegenüber dem Cholesterin als Schutzkolloid. Die Wirkung ist bei den schwächeren Konzentrationen (Cholesterin und Galaktosid

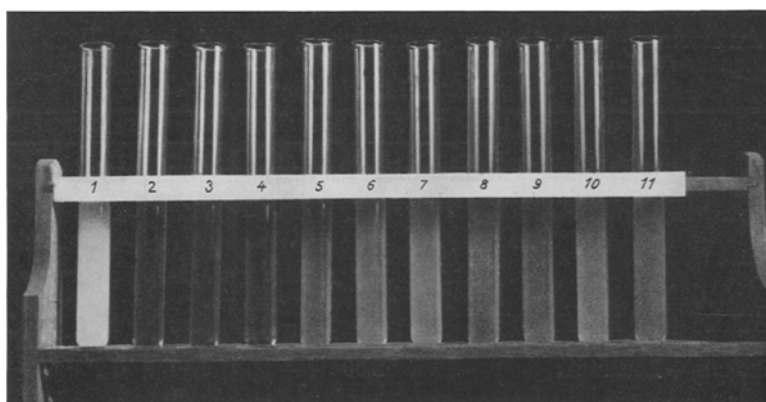


Abb. 5. Lipoidsole. Die Zahlen entsprechen der Tabelle 7.

zu gleichen Teilen = Reihe 1) sehr viel stärker als bei den hohen Konzentrationen, sie ist erheblich stärker als die der gleichen zugesetzten Lecithinmenge. Es ist hier zunächst die „Schutzwirkung“ nur daraus geschlossen, daß sich bei Zusatz von Galaktosid zu Cholesterin das letztere sehr viel feiner in Wasser verteilt (s. Abb. 5).

bb) Oberflächenaktivität gegen Wasser = 1.

Tabelle 13. Oberflächenaktivität.

	Reihe 1	Reihe 2	
		labil	stabil
Cholesterin . . . . .	1,09	1,04	1,89
Cholesterin + Cephalin . . . . .	1,16	1,60	1,64
Cholesterin + Galaktosid . . . . .	1,07	1,13	1,89
Cholesterin + Lecithin . . . . .	1,18	1,60	2,02

*Ergebnis:* Während Cephalin und Lecithin die Oberflächenspannung wesentlich heruntersetzen, beeinflußt der Galaktosidzusatz die Ober-

flächenspannung des Cholesterinsols nur wenig. Nur bei stärkerer Konzentration wird die dynamische Oberflächenspannung um ein Geringes herabgesetzt. Lehrreich ist auch die Tatsache, daß hier wieder eine physikalisch-chemische Eigenart des Cephalins gegenüber dem Lecithin deutlich wird: der verhältnismäßig geringe Unterschied zwischen stabiler und labiler Oberflächenspannung. (Es ist nicht anzunehmen, daß dies etwas mit der Konzentrationsdifferenz zu tun hat.) Eine mögliche Deutung ist die, daß beim Cephalin die Wanderungsgeschwindigkeit zur Oberfläche größer ist als beim Lecithin.

## cc) Flockung.

Ausflockung resp. Trübungsvermehrung deutlich bei

Tabelle 14. *Flockung.*

	Reihe 1			Reihe 2		
	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>
Cholesterin . . . . .	0,32	0,32	0,08	0,63	0,63	0,08
Galaktosid . . . . .	0,16	0,16	0,16	0,16	0,32	0,32
Lecithin . . . . .	5,0	—	—	—	5,0	—
Cephalin . . . . .	—	+—5,0	+—1,25	—	+—0,32	1,25
Cholesterin + Cephalin . .	—	+—0,32	+—0,16	10,0	1,25	0,63
Cholesterin + Galaktosid . .	+—0,32	+—0,63	+—0,16	+—0,32	+—0,32	+—0,32
Cholesterin + Lecithin . . .	+—5,00	2,50	+—0,16	1,25	1,25	+—0,16

*Ergebnis:* Lecithin und Cephalin schützen (wie bekannt) das Cholesterin gut gegen die Ausflockung, jedenfalls bei Zusatz von Natriumchlorid. Bei den 2- und 3wertigen Kationen ist die Schutzwirkung schlechter (hier sind die Reihen auch unregelmäßiger) entsprechend der stärkeren Fällungskraft dieser Elektrolyte gegen Lecithin und Cephalin allein. Auffallend ist die Schutzwirkung, die die beiden hydrophoben Kolloide gegeneinander ausüben: Einmal kommt es überhaupt nicht mehr, auch bei hohen Elektrolytkonzentrationen, zur Ausflockung während der beobachteten Zeit von 15 Minuten, sondern immer nur zur Trübungsvermehrung. Zweitens ist—wenigstens bei den schwachen Konzentrationen der Lipoidlösungen (Reihe 1)—das Cholesterin allein wesentlich leichter auszufallen als mit Galaktosidzusatz, und zwar ist die Schutzwirkung den stärker fällenden 2- und 3wertigen Kationen gegenüber stärker als gegenüber dem Natriumchlorid. Bei der Reihe 2 (höhere Konzentrationen) scheint es umgekehrt zu liegen, nur gegenüber Aluminiumchlorid ist eine erhebliche Schutzwirkung auch hier deutlich.

## dd) Serumschutz.

Bedeutung der Tabelle entsprechend der bei „Reinsubstanz“.

Tabelle 15. *Serumschutz.*

	Reihe 1	Reihe 2
Cholesterin . . . . .	1,00	1,00
Cholesterin + Lecithin . . . . .	1,25	0,87
Cholesterin + Galaktosid . . . . .	1,66	1,56
Cholesterin + Cephalin . . . . .	2,00	0,95

*Ergebnis:* In schwachen Konzentrationen zeigt sich, daß bemerkenswerterweise das Serum, das Gemisch von Cholesterin mit den hydrophilen Kolloiden, schlechter schützt als Cholesterin allein. Bei höheren Konzentrationen kehrt sich das Verhältnis allerdings um. Bei Zusatz von Galaktosid ist bei schwachen Konzentrationen der Serumschutz noch schlechter als bei stärkerer Konzentration.

γ) Drei- und Vierfach-Mischungen.

aa) Nephelometrischer Vergleich gegen Cholesterin.

Tabelle 16. *Trübung.*

	Reihe 1	Reihe 2
Cholesterin . . . . .	1,000	1,000
Cholesterin + Cephalin + Galaktosid . . . . .	0,161	0,500
Cholesterin + Cephalin + Lecithin . . . . .	0,210	0,125
Cholesterin + Lecithin + Galaktosid . . . . .	0,357	0,667
Cholesterin + Lecithin + Galaktosid + Cephalin . . . . .	0,333	0,444

*Ergebnis:* Nur gegenüber der Cholesterin-Cephalinmischung wird durch Galaktosidzusatz die Gesamtrübung herabgesetzt, sonst werden die Lösungen dadurch überall trüber. Gegenüber der reinen Cholesterinlösung ist überall eine Trübungsverminderung zu verzeichnen. Nun beruhen diese Werte jedoch auf der Gesamtrübung des Mischungssols, das eine wesentlich höhere Gesamtkonzentration aufweist als das Cholesterin allein. Der Trübungsgrad ist ja sowohl von der Größe des Einzelteilchens als auch von der Menge der Teilchen abhängig. Es läßt sich jedoch nicht mit Sicherheit berechnen, wie groß der eigentliche „Trübungsschutz“ ist, weil ja bei allen Lösungen mit einer gegenseitigen Beeinflussung zu rechnen ist.

bb) Oberflächenaktivität gegen Wasser = 1.

Tabelle 17. *Oberflächenaktivität.*

	Reihe 1	Reihe 2	
		labil	stabil
Cholesterin + Galaktosid . . . . .	1,07	1,13	1,89
Cholesterin + Cephalin . . . . .	1,16	1,60	1,64
Cholesterin + Lecithin . . . . .	1,18	1,60	2,02
Cholesterin + Cephalin + Galaktosid . . . . .	1,11	1,36	1,83
Cholesterin + Lecithin + Galaktosid . . . . .	1,19	1,56	1,83
Cholesterin + Cephalin + Lecithin . . . . .	1,21	2,05	2,07
Cholesterin + Cephalin + Lecithin + Galaktosid . . . . .	1,19	1,72	1,77

*Ergebnis:* Gegenüber dem Cephalin setzt das Galaktosid die dynamische Oberflächenaktivität der Gesamtlösung deutlich herunter, gegenüber dem Lecithin ist eine entsprechende Wirkung, aber wesentlich geringer, zu bemerken. Bei der schwachen Konzentration (Reihe 1) ist eine Beeinflussung durch Galaktoside überhaupt nur sehr gering. Andererseits ist auch hier eine deutliche Verschiedenheit in dem Einfluß von Cephalin und Lecithin auf den Cholesterin-Galaktosidkomplex festzustellen.

## cc) Flockung.

Trübungsvermehrung deutlich bei

Tabelle 18. *Flockung.*

	Reihe 1			Reihe 2		
	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>
Cholesterin + Cephalin . .	—	+—0,32	+—0,16	10,0	1,25	+—0,63
Cholesterin + Galaktosid . .	+—0,32	+—0,63	+—0,16	+—0,32	+—0,32	+—0,32
Cholesterin + Lecithin . .	+—5,00	2,50	+—0,16	1,25	+—0,63	+—0,32
Cholesterin + Cephalin + Galaktosid . . . . .	+—5,00	+—0,63	+—0,32	5,00	+—0,32	0,63
Cholesterin + Cephalin + Lecithin . . . . .	+—2,50	+—0,63	+—0,32	+—20,00	+—1,25	0,63
Cholesterin + Lecithin + Galaktosid . . . . .	+—0,63	+—0,32	+—0,32	+—0,32	+—0,16	+—0,16
Cholesterin + Lecithin + Cephalin + Galaktosid	+—2,50	1,25	0,32	0,32	+—0,32	+—0,32

*Ergebnis:* Bei Zusatz von Galaktosiden zu Cholesterin-Cephalin- oder Cholesterin-Lecithinmischung wird die Ausflockbarkeit erleichtert. Auch hierbei verhalten sich Cephalin und Lecithin verschieden, insofern die Herabsetzung der Flockungsresistenz gegenüber der Cephalinmischung viel schwächer ist als gegenüber der Lecithinmischung. Bei dem 3-wertigen Aluminium kommt der Cephalinmischung gegenüber ein deutlicher Flockungsschutz durch Zusatz von Galaktosid zutage. Bei der Gesamtmischung ist sogar meistens ein Flockungsschutz zu erkennen, oder aber der Flockungspunkt wird durch Zusatz von Galaktosid nicht geändert.

## dd) Serumschutz.

Tabelle 19. *Serumschutz.*

	Reihe 1	Reihe 2
Cholesterin . . . . .	1,00	1,00
Cholesterin + Lecithin . . . . .	1,25	0,87
Cholesterin + Galaktosid . . . . .	1,66	1,56
Cholesterin + Cephalin . . . . .	2,00	0,95
Cholesterin + Lecithin + Galaktosid . . . . .	1,00	0,76
Cholesterin + Lecithin + Cephalin . . . . .	1,59	1,00
Cholesterin + Cephalin + Galaktosid . . . . .	1,82	0,77
Cholesterin + Cephalin + Galaktosid + Lecithin . .	1,00	1,43

*Ergebnis:* Mit einer einzigen Ausnahme wird überall durch den Zusatz von Galaktosiden zu den Lipoidmischungen im Schutz der Serumkolloide die durch Aluminiumchlorid hervorgerufene Trübung bedeutend vermindert.

*Gesamtergebnis von  $\beta$  und  $\gamma$ .*

1. Jeder Zusatz eines oder mehrerer Lipoide zum Cholesterin bewirkt eine feinere Dispergierung desselben im Wasser. Insbesondere wird auch durch Galaktosid die Trübung sehr erheblich vermindert. Die Trübungsverminderung ist wesentlich von dem Mischungs- und Mengenverhältnis abhängig.

2. Die Oberflächenspannung des Cholesterin-Lipoidgemisches richtet sich im wesentlichen bei den Zweifach-Mischungen nach der Oberflächenspannung des aktiveren Körpers. Bei den Drei- und Vierfach-Mischungen bewirkt jedoch der Zusatz von Galaktosid eine Ablenkung, insofern die Gesamtlösung weniger oberflächenaktiv wirkt als ohne das Galaktosid.

3. Jeder Zusatz der Einzellipoide zum Cholesterin (auch Galaktosid) bewirkt einen bedeutenden Schutz gegenüber der Elektrolytflockung, die bei Zusatz der Hydrophilen deutlich beim Kochsalz, beim Galaktosid deutlicher beim Aluminiumchlorid ist.

4. Im Beisein von Serum flocken die Lipoidgemische der schwachen Konzentrationen leichter aus als das Cholesterin allein, bei starken Konzentrationen hellen sie sich nach Zusatz von Elektrolyten deutlich auf, bis auf die Cholesterin-Galaktosidmischung, die auch hierbei trüber wird.

5. In fast allen Mischungen und Konzentrationen bewirkt aber das Galaktosid eine Verminderung der Trübung, wenn im Beisein von Serum ein Cholesterin-Lecithin-Cephalingemenge mit Elektrolytlösung (Aluminiumchlorid) versetzt wird.

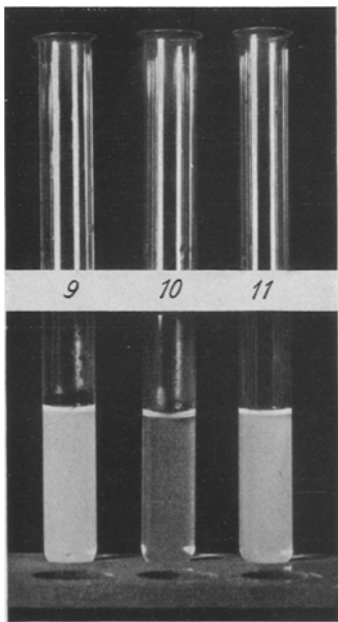
6. Es hat sich gezeigt, daß Lecithin und Cephalin in einer Reihe kolloidchemischer Eigenschaften wesentlich voneinander abweichen. Bei geeigneten Mischungsverhältnissen kann sogar gegenüber der Cholesterin-Galaktosidmischung ein gegensätzliches Verhalten beobachtet werden in bezug auf den Flockungsschutz.

*δ) Dritte Lösungsreihe.*

Diese Reihe wurde nur angesetzt, um die Wirkung des Galaktosids als Schutzkolloid gegenüber dem Cholesterin zu bestätigen, weil sich ergeben hatte, daß die Mengenverhältnisse in den Mischungen von größter Bedeutung waren. Die Konzentration der Lipoide im Wasser wurde so gewählt, daß darin 0,1% Cholesterin, 0,12% Phosphatid (0,06% Lecithin plus 0,06% Cephalin) und verschiedene Mengen Galaktosid enthalten war.

Tabelle 20.

	Insgesamt %
1. Cholesterin + Lecithin . . . . .	0,16
2. Cholesterin + Lecithin + Galaktosid (0,1%) . . . . .	0,26
3. Cholesterin + Cephalin . . . . .	0,16
4. Cholesterin + Cephalin + Galaktosid (0,1%) . . . . .	0,26
5. Cholesterin + Lecithin + Cephalin . . . . .	0,22
6. Cholesterin + Lecithin + Cephalin + Galaktosid (0,05%) . . . . .	0,27
7. Cholesterin + Lecithin + Cephalin + Galaktosid (0,10%) . . . . .	0,32
8. Cholesterin + Lecithin + Cephalin + Galaktosid (0,20%) . . . . .	0,42
9. Cholesterin + Galaktosid (0,05%) . . . . .	0,15
10. Cholesterin + Galaktosid (0,10%) . . . . .	0,20
11. Cholesterin + Galaktosid (0,20%) . . . . .	0,30

Abb. 6. Cholesterin-Galaktosidssole.  
Die Zahlen entsprechen der Tabelle 20.

Es wird bezeichnet:

Galaktosid 0,05% = I,  
0,10% = II,  
0,20% = III.

Eine nephelometrische Bestimmung wurde nicht ausgeführt, doch war die Wirkungsweise des Galaktosids eine so auffallende, daß ich sie hier zur Abbildung bringen möchte (s. Abb. 6). Es besteht also, wie daraus zu ersehen ist, ein ausgesprochenes Optimum in bezug auf den Trübungsgrad der Gesamtflüssigkeit. Wie wenig jedoch der Gesamttrübungsgrad auf die (immer gegenseitige!) Schutzwirkung zu beziehen ist, zeigt der Flockungsversuch. Die im 3. Röhrchen auftretende vermehrte Trübung ist offenbar auf die Eigen-trübung des hochprozentigen Galaktosids zurückzuführen.

### Flockungsversuch. (Grenzwerte der vermehrten Trübung.)

#### aa) Reine Substanzen.

Tabelle 21. Flockung.

	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>
Cholesterin + Galaktosid I . . . . .	+ — 0,08	+ — 0,16	+ — 0,08
Cholesterin + Galaktosid II . . . . .	+ — 0,08	+ — 0,08	+ — 0,16
Cholesterin + Galaktosid III . . . . .	+ — 0,32	+ — 0,63	+ — 5,00

*Ergebnis:* Zweifellos verhält sich die Cholesterin-Galaktosidmischung wie ein Suspensionskolloid, mit steigender Valenz des Kation wird es eher schlechter als besser ausfällbar. Zudem aber wird mit zunehmender Galaktosidkonzentration die Ausflockbarkeit stark herabgesetzt. Trotzdem beide als reine Stoffe in einer Konzentration von 0,1% bei Zusatz von 1 cem Natriumchlorid, Bariumchlorid und Aluminiumchlorid von 0,08—0,16% ausflocken, trüben sie sich in der Mischung erst bei 0,32—0,63—5%!

Ähnliche Wirkungen sind auch bei den Mischungen mit den hydrophilen Kolloiden zu erkennen.

## bb) Cholesterin + Lecithin.

Tabelle 22. *Flockung.*

	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>
Cholesterin + Lecithin . . . . .	+ — 1,25	+ — 1,25	± 0,16
Cholesterin + Lecithin + Galaktosid II	+ — 0,32	+ — 0,63	+ 0,32

*Ergebnis:* Cholesterin-Lecithin verhält sich wie ein hydrophiles Kolloid: Aluminium ist stärker wirksam als Natrium und Barium. Nach Zusatz von Galaktosid nimmt es den Flockungscharakter der Hydrophoben, des Suspensionskolloides an, wird aber dann als solches ganz schwach gegen Aluminiumfällung geschützt.

## cc) Cholesterin + Cephalin.

Tabelle 23. *Flockung.*

	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>
Cholesterin + Cephalin . . . . .	+ 5,00	1,25	F 0,63
Cholesterin + Cephalin + Galaktosid II	+ 5,00	+ — 1,25	+ — 0,63

*Ergebnis:* Cholesterin-Cephalin verhält sich noch deutlicher als ein hydrophiles Kolloid, behält aber nach Galaktosidzusatz diesen Charakter bei! Trotzdem ist eine ausgesprochene Schutzwirkung des Galaktosides deutlich: z. B. 0,63 Flockung — nach Galaktosidzusatz nur noch schwache Trübung!

## dd) Cholesterin + Lecithin + Cephalin.

Tabelle 24. *Flockung.*

	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>
Cholesterin + Lecithin + Cephalin . . . . .	+ — 1,25	+ — 1,25	+ — 0,63
Cholesterin + Lecithin + Cephalin + Galaktosid I	+ — 0,63	+ — 1,25	+ — 0,63
Cholesterin + Lecithin + Cephalin + Galaktosid II	+ — 2,50	± 2,50	+ — 0,63
Cholesterin + Lecithin + Cephalin + Galaktosid III	+ — 0,32	+ — 0,63	+ — 0,63



*Flockungs-*

% der Salzlösung	Cholesterin			Galaktosid			Lecithin		
	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>
Reihe I									
20	F	F	F	F	F	F	+	—	—
10	F	F	F	F	F	F	+	—	—
5	F	F	F	F	F	F	+	—	—
2,5	F	F	F	F	F	F	—	—	—
1,25	F	F	F	F	F	F	—	—	—
0,63	F	F	F	F	F	F	—	—	—
0,32	F	F	F	F	F	F	—	—	—
0,16	—	—	+	F	F	F	—	—	—
0,08	—	—	+	—	—	—	—	—	—
Reihe II									
20	F	F	F	F	F	F	—	+	—
10	F	F	F	F	F	F	—	+	—
5	F	F	F	F	F	F	—	+	—
2,5	F	F	F	F	F	F	—	—	—
1,25	F	F	F	F	F	F	—	—	—
0,63	F	F	F	F	F	F	—	—	—
0,32	—	—	F	F	F	F	—	—	—
0,16	—	—	F	F	—	—	—	—	—
0,08	—	—	F	—	—	—	—	—	—
Reihe III * (Neue Reihe)	1.			2.			3.		
20	+	+	—	+	+	+-	+	F	F
10	+	+	—	+	+	+-	+-	F	F
5	+	+	+-	+	+	+	+	F	F
2,5	+	+	+	+	+	+	+	F	F
1,25	+-	+-	+	+	+	F	—	F	F
0,63	—	—	F	+	+-	F	—	—	F
0,32	—	—	F	+-	—	+	—	—	—
0,16	—	—	+	—	—	—	—	—	—
0,08	—	—	—	—	—	—	—	—	—

\* Siehe Tabelle 20, S. 432.

*Ergebnis:* Cholesterin-Lecithin-Cephalin zeigt von vornherein in diesem Mischungsverhältnis nur angedeutet den Flockungscharakter des hydrophilen Kolloides. Ein deutlicher Schutz ist nur beim Zusatz von 0,1% Galaktosid erkennbar. Weniger und mehr Galaktosid setzt die Flockungstendenz herauf.

*Gesamtergebnis.*

Die Galaktoside vermögen dem Cholesterin in geeignetem Mischungsverhältnis einen wesentlichen Kolloidschutz zu verleihen. Sie üben die Schutzwirkung auch auf Cholesterin-Lecithin- oder Cholesterin-Cephalinmischungen aus. Bei der Gesamtmischung Cholesterin-Lecithin-Cephalin ist die Schutzwirkung nur gering, niemals aber tritt bei

tafel.

Cephalin			Chephalin, Cholesterin			Galaktosid, Cholesterin			Lecithin, Cholesterin		
NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>
—	+	+		+	+	+	+	+	Sp +	+	+
—	+-	+		+	+	+	+	+	Sp +	+	+
—	+-	+		+	+	+	+	+	—	+	+
—	—	+		+	+	+	+	+	—	+	+
—	—	+-		+	+	+	+	+	—	—	+
—	—	—		+-	+	+	+-	+	—	—	+
—	—	—		+-	+	+-	—	+	—	—	+
—	—	—		—	+	—	—	+-	—	—	—
—	—	—		—	—	—	—	—	—	—	—
<hr/>											
+-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
—	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+
—	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+
—	+	+	—	+	+	+	+	+	+-	+	+
—	+	—	—	—	+-	+	+	+	Sp+-	Sp+-	+
—	+-	—	—	—	—	+-	+-	+-	—	—	+
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sp+-
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<hr/>											
4.			5.			6.			7.		
+	F	F	+	F	+	+	+	F	+	+	F
+	F	F	+-	F	F	Sp+-	+	F	+	+	F
+-	F	F	Sp+-	F	F	Sp+-	+	F	+	+	F
—	+	F	Sp+-	+	F	Sp+-	+	F	+-	+	F
—	+-	+	Sp+-	Sp+-	+	Sp+-	Sp+-	F	—	—	F
—	—	Sp+-	—	—	+-	Sp+-	—	+-	—	—	+-
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

geeignetem Mengenverhältnis etwa leichtere Ausflockbarkeit auf. Allerdings ist das Mengenverhältnis von entscheidender Bedeutung. Die Ergebnisse bestätigen im wesentlichen diejenigen der Reihen 1 und 2.

### c) Folgerungen.

Der Grund, warum die Untersuchungen angestellt worden waren, war der, daß es unerklärlich schien, wie es bei einer Steigerung des Cholesteringehaltes überhaupt zu einer Vermehrung von Galaktosid kommen könne. Denn als hydrophobes Kolloid, als das es bekannt ist, hätten doch die Lösungsbedingungen wesentlich verschlechtert werden müssen. Wenn auch die teleologische Richtung, die in dieser Frage liegt, keinen ernsthaften Einwand gegen eine Erklärungsmöglichkeit

*Flockungstafel (Fortsetzung).*

% der Salzlösung	Galaktosid, Cephalin, Cholesterin			Lecithin, Cephalin, Cholesterin			Galaktosid, Lecithin, Cholesterin			Cephalin, Galaktosid, Lecithin, Cholesterin		
	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub>
Reihe I												
20	+	+	+	Sp +	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	Sp +	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+ -	+	+	Sp +	+	+	+	+	+	+	+	+
2,5	-	+	+	+ -	+	+	+	+	+	+ -	+	+
1,25	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
0,63	-	+ -	+	-	+ -	+	+ -	+	+	-	-	+
0,32	-	-	+ -	-	-	+ -	-	+ -	+ -	-	-	-
0,16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Reihe II												
20	+	+	+	+ -	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
2,5	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
1,25	-	+	+	-	+ -	+	+	+	+	+	+	+
0,63	-	+ -	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+ -
0,32	-	Sp + -	-	-	-	-	+ -	+	+	+	+ -	+ -
0,16	-	-	-	-	-	-	-	+ -	+ -	-	-	-
0,08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Reihe III * (Neue Reihe)	8.			9.			10.			11.		
20	+	F	F	F	F	F	F	F	F	+	+	+
10	+	F	F	F	F	F	F	F	F	+	+	+
5	+	F	F	F	F	F	F	F	F	+	+	+
2,5	+	F	F	F	+	+	F	F	F	+	+	+
1,25	+	+	+	F	+	+	F	F	F	+	+	+
0,63	+ -	+ -	+ -	F	+	+	F	F	F	+	+	+
0,32	Sp + -	-	-	+	+ -	+	F	F	F	+	+	+
0,16	-	-	-	+	+ -	+	F	F	+	-	-	-
0,08	-	-	-	+ -	-	+	+	+	-	-	-	-

\* Siehe Tabelle 20, S. 432.

geben kann, so war sie doch der Anlaß dazu, zu untersuchen, wie sich die Lösungsbedingungen von den (bisher bloß berücksichtigten) Lipoiden verändern, wenn Galaktosid hinzukommt.

Erstaunlicherweise muß nun festgestellt werden, daß die Lösungsbedingungen vielfach im Sinne einer Erhöhung der Stabilität verbessert werden. Am hervorstechendsten tritt diese Einwirkung des Galaktosids in Erscheinung bei reiner Mischung mit Cholesterin. Die Dispersität wird dadurch ganz außerordentlich gesteigert, die Neigung zur Ausflockung als Gradmesser der Stabilität der Lösung erheblich vermindert. Eine Erklärung hierfür vermag ich nicht zu geben, denn die Vorstellung, die wir von der Schutzwirkung der Kolloide haben, ist die, daß das hydrophile Kolloid an Teilchen des hydrophoben absorbiert wird, es

umhüllt und so die Beziehung der dispersen Phase zum Dispersionsmittel so gestaltet, wie wir es für die hydrophilen Kolloide kennen. Diese Erklärungsmöglichkeit fällt naturgemäß hier fort, wenn man nicht annehmen will, daß das Galaktosidmolekül gerichtet sei, daß es ein hydrophobes und ein hydrophiles Ende habe. Letzteres wäre dann das Galaktosemolekül. Diese Vorstellung erscheint durchaus annehmbar und entspricht den Vorstellungen, die man über das Lecithin hat (*Leathes*<sup>68</sup>).

Um so erstaunlicher ist es, daß die Galaktoside bei dem Antagonismus zwischen hydrophobem Cholesterin und dem hydrophilen Phosphatid in geeignetem Mischungsverhältnis die Phosphatidwirkung — in bezug auf die kolloidalen Lösungsverhältnisse — zum mindestens nicht verschlechtern. Die Versuche zur Dispersoidanalyse haben gezeigt, daß die Ausflockbarkeit bei ungeeigneter Konzentration erleichtert, meistens aber unbeeinflusst und bei geeigneten Mengenverhältnissen sogar erschwert ist. Dieser Flockungsschutz ist den höherwertigen Kationen gegenüber meist deutlicher als dem einwertigen Natrium gegenüber. Zum mindesten aber ist aus den Versuchen zu ersehen, daß eine Vermehrung der Galaktoside im Lipoidkomplex keineswegs immer zu einer Verschlechterung der kolloidalen Lösungsbedingungen zu führen braucht. Vor allem kommt es auf das Konzentrationsverhältnis der Fraktionen zueinander an, und es gibt auch für das Galaktosid ein Optimum, dem seine Wirkungsweise in der Richtung einer Erhöhung der Stabilität liegt. Am günstigsten liegen die Verhältnisse offenbar dann, wenn der Quotient Cholesterin zu Phosphatid zu Galaktosid etwa wie 1 : 1 : 1 liegt.

Aber alles das gilt nur für die reinen Lipoidmischungen. In der Zelle oder im Plasma kommt ja (abgesehen von den vielen unbekannten Einflüssen) mindestens noch die Eiweißwirkung hinzu und in bezug hierauf ist das Verhalten des Galaktosids ganz besonders merkwürdig. Im reinen Zustand wird seine Lösung nur sehr schlecht vom Serum gegen Flockung geschützt, schlechter als die anderen Lipoidlösungen. Entsprechend wird auch der Serumschutz des Cholesterins durch Galaktosidzusatz bedeutend vermindert. Wenn jedoch das Galaktosid zu einer Cholesterin-Lecithin- oder Cholesterin-Cephalin- oder Cholesterin-Cephalin-Lecithinmischung hinzugefügt wird, so wird die Serumschutzwirkung den Cholesterin-Phosphatidmischungen gegenüber verstärkt! Dieses eigentümliche widerspruchsvolle Verhalten kann ich mir ebensowenig erklären, wie die oben erwähnte Schutzwirkung dem reinen Cholesterin gegenüber. Es scheint jedoch nicht unwichtig zu sein und weist jedenfalls darauf hin, daß das Vorhandensein des Galaktosids nicht von bloß unter- oder nebengeordneter Bedeutung für die anderen Lipide sein kann. Das Galaktosid greift zweifellos tief in die inneren kolloidchemischen Beziehungen des Lipoidkomplexes und in sein Verhalten gegen die Eiweißkörper ein. Es kann die Oberflächenspannung, die Hydratation, die Lösungsstabilität und die Dispersität wesentlich beeinflussen.

Als ein Nebebefund hat sich aus den Untersuchungen übrigen auch ergeben, daß Lecithin und Cephalin eine im ganzen zwar gleich gerichtete kolloidchemische Bedeutung als hydrophile Körper haben, daß aber im einzelnen ihre Wirksamkeit manchmal erheblich abweicht, so daß auch ihr Mischungsverhältnis im Gesamtkomplex unter Umständen von entscheidender Bedeutung für die Gesamtwirkung nach außen hin sein kann.

So ungemein verwickelt die Verhältnisse auch liegen mögen, läßt sich mit Sicherheit sagen, daß die Anwesenheit des Galaktosids nicht gleichgültig sein kann. Um hierfür einen weiteren Beweis zu erbringen und um gleichzeitig die Richtung der biologischen Wirksamkeit kennenzulernen, habe ich noch den Einfluß auf die Hämolyse der roten Blutkörperchen studiert. Es war von vornherein anzunehmen, daß die Galaktoside in der Richtung des Cholesterins wirksam sein würden, weil hier ja die Vorzeichen der elektrischen Ladung entscheidend ist. Bei den widerspruchsvollen Erscheinungen, die sich bei der Dispersoidanalyse beobachten ließen, war allerdings ein Ergebnis nicht mit Sicherheit vorauszusehen.

#### 4. Hämolyseversuche.

##### a) Methodik.

In der Technik richtete ich mich ungefähr nach den Angaben von *Brinkmann* und *van Dam*<sup>47</sup>, allerdings mit kleinen Abweichungen. Kaninchenblut wurde in 10%igem Natriumcitrat aufgefangen, abzentrifugiert und die roten Blutkörperchen 3mal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Der Blutkörperchenbrei wurde mit den verschiedenen Lipoidsolen zusammengebracht. Hier war jedoch eine Schwierigkeit zu überwinden. Da ich Gewicht darauf legte, die Lipoidlösungen in feinsten kolloidaler Form zu benutzen, mußte ich die Stammlösungen in Aqua dest. herstellen. Es hatte sich bei den Vorversuchen gezeigt, daß bei den wirksamen Konzentrationen die Lipide ausflockten, wenn die Kochsalzkonzentration der Lösung auf etwa 0,9% gebracht wurde. Deshalb mußte eine solche Konzentration des Lipoidsols gewählt werden, daß die zum Blutkörperchenbrei hinzugefügte Menge einerseits klein genug war, um eine spontane Hämolyse zu vermeiden, andererseits groß genug, um noch im Hämolyseversuch wirksam zu sein. Die Lipoidlösungen wurden auf gleiche Weise hergestellt, wie ich es bereits bei den kolloidchemischen Versuchen beschrieben habe. Es wurden benutzt:

Tabelle 25.

Cholesterinsol . . . . .	0,7 ‰
Galaktosidsol . . . . .	0,7 ‰
Lecithinsol . . . . .	0,4 ‰
Cholesterin 0,7‰ + Galaktosid 0,7 ‰ . . . . .	= 1,4 ‰
Cholesterin 0,7‰ + Galaktosid 0,35‰ . . . . .	= 1,05 ‰
Cholesterin 0,7‰ + Galaktosid 1,40‰ . . . . .	= 2,10 ‰

Hiervon wurden zu 0,5 ccm Blutkörperchenbrei (aus einer Mikropipette) ungefähr 0,05 ccm Cholesterinsol, 0,05 ccm Galaktosidsol und 0,05 ccm Lecithinsol hinzugefügt; jedoch soll hiermit nur eine Angabe der Größenordnung gemacht sein, denn im Einzelversuch mußte jeweils die brauchbare Menge vorher genau

geprobt werden. Zunächst wurde nämlich diejenige Menge Lecithinsol ausgewertet, die eine eben noch deutliche hämolysefördernde Wirkung hatte. Diese Menge wurde dann im Hauptversuch zusammen mit Cholesterin und Galaktosid verwendet. Das Gemisch von Blutkörperchen und Lipoidsol wurde durchgeschüttelt und etwa 20 Minuten bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nunmehr wurde jeweils genau ein Tropfen dieser Mischung in die verschiedenen Kochsalzkonzentrationen gebracht und die aufgetretene Hämolyse nach 15 Minuten abgelesen. Die Eigentrübung des hinzugefügten Lipoidsols machte es notwendig, vor der Ablesung abzuzentrifugieren und den Grad der Hämolyse nach Abschätzung der aufgetretenen Rötung zu messen.

### b) Ergebnisse.

Zunächst galt es, die Befunde von *Brinkmann* und *van Dam* u. a. zu bestätigen, daß nämlich Lecithin die Hämolyse fördert und Cholesterin die Hämolyse resp. die Wirkung des Lecithins hemmt. Hierdurch sollte sich zugleich die Brauchbarkeit der angewendeten Technik, die etwas von der angegebenen abweicht, erweisen.

#### 1. Lecithin-Cholesterin.

Als Beispiel seien folgende Tabellen angeführt:

Tabelle 26. Konzentration der Kochsalzlösung in Prozente.

	0,57	0,56	0,55	0,54	0,53	0,52	0,51	0,50	0,49	0,90
Vergleich . . . . .	—	—	—	— Sp	+—	+—	+—	+	‡	—
+Lecithin . . . . .	— Sp	— Sp	+—	+	+	‡	‡	‡	‡	—
+Lecithin+Cholesterin	—	—	—	— Sp	— Sp	+—	+—	+	+	—

Tabelle 27. Konzentration der Kochsalzlösung in Prozente.

	0,59	0,58	0,57	0,56	0,55	0,52	0,50	0,90
Vergleich . . . . .	—	—	—	+—	+	+	+	—
Cholesterin . . . . .	—	—	—	—	—	+	+	—
Lecithin . . . . .	+—	+	+	+	+	+	+	—

*Ergebnis:* Wie zu erwarten, fördert Lecithin die Hämolyse, Cholesterin hemmt sie. Bei der Mischung von Lecithin und Cholesterin wird die hämolysefördernde Wirkung des Lecithins durch Cholesterin völlig aufgehoben.

#### 2. Lecithin-Galaktosid.

Tabelle 28. Konzentration der Kochsalzlösung in Prozente.

	0,57	0,56	0,55	0,54	0,53	0,52	0,51	0,50	0,49	0,90
Vergleich . . . . .	—	—	—	— Sp	+—	+—	+—	+	‡	—
Lecithin . . . . .	Sp —	— Sp	+—	+	+	‡	‡	‡	‡	—
Lecithin + Galaktosid	—	—	—	— Sp	— Sp	+—	+	+	+	—
Galaktosid . . . . .	—	—	—	—	—	—	—	+—	+	—

*Ergebnis:* Galaktosid hemmt in der gleichen Weise wie Cholesterin die Hämolyse selbst. Auch die Wirkung des Lecithins wird durch Galaktosid aufgehoben.

3. Es war noch festzustellen, in welcher Weise sich das Galaktosid in der Mischung Lecithin-Cholesterin verhalten würde. Zu dem folgenden Versuch wurden die Reinsole benutzt, die 10 Minuten vor dem Ansetzen des Versuches miteinander gemischt, gut durchgeschüttelt und so zu dem Blutkörperchenbrei hinzugesetzt wurden.

Tabelle 29. Konzentration der Kochsalzlösung in Prozente.

	0,60	0,59	0,58	0,57	0,56	0,55	0,54	0,53	0,52	0,51	0,50	0,90
Vergleich . . . . .	—	—	—	—	—	+—	+	+	+	+	+	—
Cholesterin . . . . .	—	—	—	—	—	+—	+	+	+	+	+	—
Galaktosid . . . . .	—	—	—	—	—	+—	+	+	+	+	+	—
Lecithin . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Cholesterin+Lecithin												
+Galaktosid . . . . .	—	—	—	—	+—	+—	+	+	+	+	+	—
Cholesterin+Galakt.	—	—	—	—	—	+—	+	+	+	+	+	—
Lecithin+Galaktosid .	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—

*Ergebnis:* Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß sich Cholesterin und Galaktosid zusammen ebenso dem Lecithin gegenüber verhalten wie jedes für sich allein. Die Hemmung der Hämolyse selbst gegenüber ist bei gleicher Konzentration beim Galaktosid stärker ausgeprägt als beim Cholesterin.

4. Es war jedoch nicht ausgemacht, ob die Wirkungsweise des Galaktosids die gleiche ist, wenn man es als Einzelsol zu dem übrigen hinzufügt, oder ob es als Mischsol mit Cholesterin zusammen zur Wirkung kommt. Denn auch sein Einfluß auf die Dispersität des Cholesterins in Wasser macht sich erst bei gleichzeitigem Eintropfen der Alkohol-lösung in Wasser geltend. Daher wurden 3 Cholesterin-Galaktosidsole hergestellt in der Weise wie oben beschrieben, und zwar

1. Cholesterin 0,07% — Galaktosid 0,35% . . . . . = I
2. Cholesterin 0,07% — Galaktosid 0,7 % . . . . . = II
3. Cholesterin 0,07% — Galaktosid 1,4 % . . . . . = III

Tabelle 30. Konzentration der Kochsalzlösung in Prozente.

	0,65	0,55	0,54	0,53	0,52	0,51	0,50	0,49	0,48	0,47	0,90
Vergleich . . . . .	—	—	—	—	—	+—	+—	+	+	+	—
Cholesterin+Galaktosid I .	—	—	—	— Sp	— Sp	+—	+—	+	+	+	—
Cholesterin+Galaktosid II	—	—	—	—	—	+—	+—	+	+	+	—
Cholesterin+Galaktosid III	—	—	—	— Sp	— Sp	+—	+—	+	+	+	—
Cholesterin . . . . .	—	—	—	—	—	+—	+—	+	+	+	—
Lecithin . . . . .	—	— Sp	— Sp	—	—	+	+	+	+	+	—
Lecithin+Cholesterin . .	—	—	—	— Sp	— Sp	+—	+—	+	+	+	—
Lecithin+Galaktosid I . .	—	—	—	— Sp	— Sp	+—	+—	+	+	+	—
Lecithin+Galaktosid II .	—	—	—	—	—	+—	+—	+	+	+	—
Lecithin+Galaktosid III .	—	—	—	—	— Sp	+—	+—	+	+	+	—

*Ergebnis:* Die Wirkung des Galaktosides hat sich nicht dadurch verändert, daß es gleichzeitig mit dem Cholesterin zusammen in kolloidale Lösungen gebracht worden war. Sie liegt in derselben Richtung, wie wenn man die Einzelsole vor dem Versuch zusammenbringt. Mit steigender Konzentration des Galaktosids steigert sich auch die hemmende Wirkung auf das Lecithin.

5. Diese letzte Feststellung: daß nämlich bei steigendem Galaktosidzusatz die hämolysehemmende Wirkung sich steigert, enthält noch eine Unklarheit. Die Steigerung konnte einmal darauf zurückgeführt werden, daß überhaupt die Menge der hydrophoben Kolloide vermehrt wurde, sie konnte aber auch dem aktiven Verhalten des Galaktosids zugeschrieben werden, das die Dispersität des hydrophoben Sols erhöht. Daher wurden folgende Reihen angesetzt.

Tabelle 31. Konzentration der Kochsalzlösung in Prozente.

	0,58	0,57	0,56	0,55	0,54	0,53	0,52	0,51	0,50	0,49	0,90
1	—	—	—	— Sp	— Sp	+ —	+	+	+	+	—
2	+ —	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
3	— Sp	+ —	+ —	+	+	+	+	+	+	+	—
4	— Sp	+ —	+ —	+ —	+	+	+	+	+	+	—
5	—	— Sp	+ —	+	+ —	+	+	+	+	+	—
6	—	—	—	— Sp	— Sp	+ —	+	+	+	—	—

1 = Vergleich.

2 = 0,3 ccm 0,4% Lecithin.

3 = 0,3 ccm 0,4% Lecithin + 0,02 ccm 0,7% Cholesterin.

4 = 0,3 ccm 0,4% Lecithin + 0,05 ccm 0,7% Cholesterin.

5 = 0,3 ccm 0,4% Lecithin + 0,10 ccm 0,7% Cholesterin.

6 = 0,3 ccm 0,4 % Lecithin + 0,05 ccm Mischsol = 0,7% Cholesterin + 0,7% Galakt.

*Ergebnis:* 0,05 ccm Mischsol (= 0,7% Cholesterin + 0,7% Galaktosid) wird ganz erheblich stärker Hämolyse hemmen als 0,1 ccm Cholesterinsol allein. Wie das also schon aus dem Versuch 3 zu erwarten war, wirkt eben Galaktosid erheblich stärker als die gleiche Menge Cholesterin.

### Zusammenfassung.

1. Galaktosid wirkt auf die Hämolyse und auf die Hämolyse verstärkende Wirkung des Lecithins stark hemmend.

2. Die hemmende Wirkung des Galaktosides ist erheblich stärker als die des Cholesterins.

3. Für die Wirkungsrichtung ist es gleichgültig, ob die Sole einzeln in den Versuch gebracht werden, oder ob sie als Mischsole verwendet werden.

### Folgerungen.

Die vorstehenden Versuche sind an roten Blutkörperchen ausgeführt, aber die daran zu knüpfenden Überlegungen gelten natürlich für alle



lipoidhaltigen Zellen und für die sie umspülende Flüssigkeit. Für die roten Blutkörperchen selbst ist es übrigens bekannt, daß ihre Membran Galaktosid enthält (*Pascucci, Bang und Forssmann*). Aus den kolloidchemischen Versuchen hatte ich geschlossen, daß den Galaktosiden, wo sie vorhanden sind, unbedingt eine biologische Bedeutung zukommen müsse und hatte, um dies zu erhärten, ihre Wirksamkeit auf Zellen (rote Blutkörperchen) untersucht. In der Tat hatte sich nun gezeigt, daß die Galaktoside außerordentlich wirksam sind. Ihr Einfluß — ihrer Natur als hydrophobem Kolloid entsprechend — ist eine membranabdichtende, hämolyseverhindernde, wie der des Cholesterins. Aber dem Grad nach ist dieser Einfluß ganz deutlich stärker als der des Cholesterins. Und hierin kommen die eigentümlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften zum Ausdruck: der ausgesprochen hydrophobe Charakter, verbunden mit der leichten und außerordentlich feinen Dispergierbarkeit, die die Entwicklung einer großen Oberfläche zur Folge hat. Jedenfalls ist aus diesen Versuchen zu entnehmen, daß die Galaktoside auch vom kolloidchemischen Standpunkt aus biologisch einen nicht zu unterschätzenden Faktor darstellen.

### III. Epikrise.

1. Wollte man einen Überblick über die Kenntnisse geben, die wir von der Bedeutung der Lipide für den Stoffwechsel und die immunbiologischen Vorgänge haben, so würde das einen umfangreichen Band füllen. Die erste Hälfte wäre dem Cholesterin gewidmet, fast ganz die zweite Hälfte den Phosphatiden und ein kleiner Bruchteil nur den Galaktosiden samt den anderen noch weniger bekannten Körpern. Das ist durch mannigfache äußere Gründe bedingt. Vor allem spielt hier die Methodik eine ausschlaggebende Rolle. Die gut durchgebildete Bestimmungsmethode eines wohlbekannten chemischen Körpers, die genaue Kenntnis ihrer Grundlagen und Fehlerquellen schafft einen sicheren Boden. Oft entwickeln sich erst von hier aus die großen Probleme, die ohne den äußeren, entscheidenden Faktor der Methodik gar nicht zu Gesicht gekommen wären.

Ähnlichen Einfluß hat auch die *Windaussche* Bestimmungsmethode auf das Cholesterinproblem gehabt. Zu einem großen Teil ist es gerade ihr zu verdanken, daß unsere Kenntnisse über den Cholesterinstoffwechsel so ausgedehnte sind und immer neue Fragenkomplexe auftauchen. Auf weniger sicherem Boden stehen schon die Bestimmungsmethoden für Phosphatide, und ganz schlecht war es um die Galaktoside bestellt. Ganz entsprechend der Wertigkeit der Methoden ist auch die Wertigkeit der biologischen Bedeutung, wollte man sie nach der Zahl der Arbeiten abschätzen.

Es ist eine erstaunliche Tatsache, daß man alles Wissenswerte über die Bedeutung der Galaktoside in wenigen Zeilen zusammenfassen kann.

Es wird in dem Schrifttum viel von Lipoiden gesprochen. Man *versteht* darunter Cholesterin, Phosphatide, Galaktoside, Sphingomyelin u. a. m., *meint* damit aber Cholesterin und Phosphatid. Dabei ist man sehr gut darüber unterrichtet, daß diese beiden Lipoidfraktionen niemals isoliert vorkommen, sondern daß in den meisten Organen noch andere Lipoidfraktionen mitenthalten sind, in deutlich erkennbarer Menge auch Galaktosid. Trotzdem hat man bei fast allen chemisch-biologischen Analysen und anderen experimentellen Untersuchungen sich auf das Cholesterin und die Phosphatide beschränkt, um sich ein Bild von dem Lipoidstoffwechsel zu machen. Dabei ist jedoch selten nur ausdrücklich von einem Verzicht auf die übrigen Lipoidfraktionen die Rede, so daß es vielmehr den Eindruck macht, als habe man in den beiden untersuchten Stoffen (z. B. als Antagonisten) die Hauptvertreter der Lipoidfraktionen erfaßt, demgegenüber die übrigen Stoffe unwichtig sind. Hier ist gleichsam stillschweigend eine biologische Wertung eingesetzt, die jedoch nicht begründet ist. Keine Einzelfraktion des gesamten Lipoidkomplexes kann der anderen vorgezogen werden oder übergeordnet sein. Auch der Antagonismus zweier Einzelvertreter kann zwar als solcher erkannt, aber in seinem Ausmaß und seinen Bedingtheiten nur im Zusammenhang mit den übrigen Lipoidfraktionen eingeschätzt werden. Diesen Forderungen — wenigstens zu einem kleinen Teil — nachzukommen, hatte ich mir zur Aufgabe gesetzt.

Durch eine früher ausgearbeitete Methode war ich in die Lage versetzt, neben dem Cholesterin und Phosphatid auch die Galaktoside zu verfolgen. In meinen Untersuchungen habe ich sie ganz und gar in den Vordergrund gerückt, besonders auch in bezug auf ihr kolloid-chemisches Verhalten zu den beiden anderen Fraktionen. Wenn ich nun im folgenden bei kritischer Würdigung des vorgebrachten Materials auf die Bedeutung der Galaktoside hinweise, so geschieht dies nicht etwa, um sie den anderen Lipoidfraktionen überzuordnen, sondern um sie gleichwertig in ihre Reihen einzustellen.

Man mißt dem Cholesterin und den Phosphatiden im allgemeinen eine besondere, aktive Rolle zu. Sie stellen im Organismus vom biologischen Standpunkt aus Körper dar, die in schon verhältnismäßig geringen Mengen einen großen Einfluß auf den Gesamtstoffwechsel ausüben. Sie gelten nicht als dessen indifferente Endprodukte, sondern als äußerst labile Zwischenstufen für den Auf- und Abbau der Neutralfette, sie greifen durch ihr physikalisch-chemisches Verhalten in das kolloidale Gleichgewicht ein, durch das sie die Protoplasmastruktur, die Membrandurchlässigkeit der Zelle, den Salz- und Wassergehalt usw. regeln.

Den Galaktosiden konnte man auf Grund der bisherigen Versuche einen solchen „aktiven“ Einfluß nicht ohne weiteres zusprechen. Die Tatsache, daß sie in den meisten Organen aufgefunden werden konnten, konnte auch im Sinne einer „indifferenten“ Ablagerung gedeutet werden. Wenn sie sich beim Morbus Gaucher in großen Mengen

ablagern, so war zwar ein Hinweis auf die mögliche aktive Beteiligung am Stoffwechsel gegeben; aber die Verhältnisse konnten doch ähnlich liegen wie beim Depot-Glykogen, von dem wir ja auch ganz ähnliche Massenablagerungen kennen<sup>48</sup>. Einzig die Tatsache, daß jene Körper — die ja in der Hülle der roten Blutkörperchen vorkommen — auch experimentell membranabdichtend wirken, ließ einen Schluß auf ihre biologische Wirksamkeit zu<sup>19 b</sup>. Diese Angabe hat jedoch keinen Widerhall im Schrifttum gefunden. Man sah die Galaktoside nach wie vor als refraktäre, indifferente Körper an, die bei Verfütterung an Tiere keinen erkennbaren Einfluß hatten, und von denen nicht einmal ein fermentativer Abbau bekannt war.

Demgegenüber glaube ich nun folgendes gezeigt zu haben: 1. Ist in physiologisch-chemischer Beziehung der Gleichgewichtszustand äußerst labil. Im Gegensatz z. B. zum Cholesterin — von dem ähnliche Dinge nicht bekannt sind — spaltet sich nach kurzer Zeit schon Galaktose aus dem Cerebrosidmolekül (*Kimmelstiel*<sup>49</sup>). Es geht daraus zweifellos hervor, daß ein Abbau unter fermentativen Bedingungen möglich ist. 2. Bei einer experimentellen Abänderung der physiologischen Stoffwechselrichtung, bei der es zu einer Verschiebung der Mengenverhältnisse der als „aktiv“ bekannten Lipide kommt, ändert sich auch die Galaktosidmenge. Die Ergebnisse der Kaninchenversuche zeigen sogar, daß die Galaktoside in besonders hohem Ausmaß an der Steigerung der Lipidmengen beteiligt sind. Mir erscheint es jedoch zweifelhaft, daß man eine aktive Rolle als Stoffwechselzwischenprodukt aus diesem Mitanstiegen ablesen kann.

Die Deutung der Tatsache stößt auf erhebliche Schwierigkeiten. Solange man die Galaktoside nicht berücksichtigte, war eine Erklärung auf chemischer Basis möglich. *Wacker* und *Hueck*<sup>50</sup> haben gezeigt, daß sowohl die Cholesterinester wie auch die Phosphatide im Blut ansteigen, wenn man Cholesterin + Neutralfett verfüttert. Die Theorie, die sie darauf aufbauten, war einleuchtend: das Neutralfett wird zum Transport gespalten. Ein Fettsäureradikal wird an Cholesterin verestert, der Rest wird mit Cholin- (resp. Colamin-) Phosphorsäure zum Phosphatid synthetisiert. Wenn ich jedoch nun feststellen muß, daß daneben auch die Galaktosidfraktion ansteigt, ist zu der Theorie von *Wacker* und *Hueck* eine Zusatztheorie notwendig, es muß nach einer neuen Erklärung hierfür gesucht werden. Man müßte annehmen, daß neben der Aufteilung des zugeführten Neutralfettes in Estercholesterin und Phosphatide ein anderer Teil umgebaut und an Galaktose verkoppelt zum Galaktosid aufgebaut wird. Es besteht wohl heute kein Zweifel mehr darüber, daß die Lipide im Körper synthetisiert werden können (das letzte ausgezeichnete Sammelreferat hierüber: *Magistris* im *Asher-Spiro*). Insbesondere ist uns auch das von den Galaktosiden bekannt (*Smith* und *Mair*<sup>24</sup>). Man

ist also wohl auch zu einem entsprechenden Schluß bei unseren Fütterungsversuchen berechtigt.

Nun sollte man bei der Parallelität des Phosphatid- und Galaktosidgehaltes doch annehmen, daß die Synthese beider auf irgendeine Weise aneinander gekoppelt ist. Unsere Kenntnisse reichen jedoch nicht entfernt aus, um hier chemisch-formelmäßig eine Beziehung zueinander herzustellen, und ich möchte zunächst nur feststellen, daß eine einheitliche Erklärung auf diesem Boden vorerst nicht möglich ist. Diese Tatsache mahnt jedoch zur Vorsicht gegenüber einer formelmäßig so einfachen Vorstellung von dem Abbau der Neutralfette über Cholesterin und Phosphatide. Freilich stellen meine Befunde keineswegs eine bindende Widerlegung dar; sie lassen sich im Augenblick nicht in das bisherige System einpassen. Wohl aber wäre es — wie später auszuführen ist — denkbar, daß andere als chemische Ursachen für die gleichmäßige Bewegung der Phosphatid- und Galaktosidkurve verantwortlich zu machen sind.

Einen Beweis dafür, daß die Galaktoside ein Stoffwechselzwischenprodukt, im engeren Sinne aktive Körper sind, geben also meine Versuche nicht. Denn es könnte sich bei der Vermehrung der Galaktoside in den Organen um einen Aufbau als Stoffwechselendprodukt handeln, wenngleich das auch nicht sehr wahrscheinlich ist.

3. Wenn im vorhergehenden nur die „passive Veränderlichkeit der Galaktoside“ besprochen wurde, so soll jetzt von dem eigentlichen „aktiven Einfluß auf die Umgebung“ die Rede sein, wie ich sie in den kolloidchemischen und kolloidbiologischen Versuchen zu studieren versuchte.

Dazu muß jedoch vorweg eines gesagt werden. Den Versuchen haftet anscheinend ein entscheidender Fehler an: sie schweben insofern in der Luft, als man bisher nicht weiß, ob die Galaktoside überhaupt im Plasma vorkommen. Ich will nicht verschweigen, daß ich mich lange, aber vergeblich bemüht habe, nach vorangegangener Reinigung des Ätheralkoholextraktes — der sehr reich an reduzierenden Stoffen ist — mit meiner Methode den Nachweis zu führen, allerdings nur in kleinen Plasmamengen. Ohne hier auf alle Umständlichkeiten und die zahlreichen Fehlerquellen eingehen zu wollen, die sich diesem Unterfangen entgegenstellen, soll nur darauf hingewiesen werden, daß die Lösungsverhältnisse der Kolloide im Blut völlig andere sind als in den Organen. Es ist ja auch von der Organextraktion her bekannt, daß die Lipide an die Zellstruktur verankert sind (s. *Kimmelstiel*<sup>51</sup>) und ihre Löslichkeitsbedingungen nicht bloß durch die gegenseitige Mischung, sondern auch durch chemische oder physikalische Bindung an das Eiweiß stark gegenüber der Reinsubstanz abgeändert werden. Noch viel verwickelter liegen nach meinen Erfahrungen die Verhältnisse im Serum, und die Untersuchungen von *Bang* und *Forssmann*<sup>19\*</sup> bestätigen das durchaus. Auch diese Forscher konnten immer wieder feststellen, daß die Lipide, die sich zuvor in einem organischen Lösungsmittel lösten,

nach vorsichtigem Trocknen oder indifferentem Ausfällen durch andere Lösungsmittel sich nachher nur zu einem kleinen Teil in dem ursprünglichen Lösungsmittel wieder lösten. Es verlohnt sich an dieser Stelle nicht, auf die zahlreichen Möglichkeiten einzugehen, die zu einem solchen eigentümlichen Verhalten führen können, es soll damit nur gesagt sein, daß der negative Ausfall meiner Versuche kein Gegenbeweis gegen das Vorhandensein von Galaktosiden im Plasma sein kann. Es spricht sogar vieles dafür. Das Gleiche gilt meines Erachtens auch für die Organe. Meine Aortenanalysen zeigen mit zunehmender Arteriosklerose einen Anstieg der Galaktoside. Sollten wir annehmen, daß nur gerade die Galaktoside im Gewebe erst gebildet werden? Ferner das Ansteigen der Galaktoside bei Lipämie in den Organen: liegt nicht der Gedanke einer Einschwemmung durch das Plasma näher, zumal ein Zellverfettung nur in geringem Grade vorhanden ist?

Aber selbst wenn man an einem Vorkommen im Plasma zweifelt, so gilt doch das, was meine kolloidchemischen Versuche aussagen, für das Galaktosid, das im Zellprotoplasma vorhanden ist und sich hier in Mischlösung mit den übrigen Lipoiden findet. Freilich bleibt eine unüberbrückbare Kluft zwischen den Eigenschaften der Lipoiden im komplizierten Gemenge des lebendigen Protoplasma und den kümmerlichen Versuchen, die hier herrschenden Gesetze durch die Modellösungen aufzudecken. Diese Frage soll bewußt umgangen werden. Es soll auf sie nur hingewiesen werden mit dem Bemerken, daß einer hier einsetzenden Kritik keine ausreichenden Gegenbeweise entgegenzuführen sind. Dieser Mangel haftet aber allen ähnlichen Versuchen an, trotzdem sie sich vielfach als durchaus fruchtbar erwiesen haben.

Über die kolloidchemischen Eigenschaften der Galaktoside in Zellmembranen ist man bereits durch *Pascucci* unterrichtet. Man weiß, daß sie im gleichen Sinne wie Cholesterin abdichtend wirken, eine Eigenschaft, die durch die Hydrophobie leicht erklärbar ist. Denn wenn es an der Oberfläche verdichtet ist, verringert es die Leitfähigkeit und damit die Ionendiffusion. Seine hohe Dielektrizitätskonstante bewirkt eine Isolation der Zelle, an deren Oberfläche es kondensiert ist. Diese Tatsache ist, wie oben angedeutet, schon bekannt, denn *Pascucci* hat in einem Versuch gefunden, daß das Galaktosid die Wirkung der Hämolysegifte (Kobragift, Tetanustoxin, Saponin usw.) abschwächt. Durch meine Versuche kann ich nun hinzufügen: Es ist noch stärker wirksam als Cholesterin und ich erkläre mir die verstärkte Wirkung durch die leichte Dispergierbarkeit, durch die größere Oberfläche, die die Galaktoside im Solzustand haben. Hierfür wiederum wird man den Gehalt an Galaktose verantwortlich zu machen haben.

Es ergeben sich hieraus unabsehbare Folgerungen, in die wir einen Einblick durch die vielen Arbeiten über den „lipocytischen“ Koeffizienten bekommen. Vor allem ist es der Wassergehalt der Gewebe,

der hiervon abhängig ist, denn eine mangelnde Ionendiffusion, die durch das Überwiegen von Cholesterin und Galaktosid gegeben ist, bewirkt Wasserretention. Hierfür haben vor allem *Mayer* und *Schaeffer* <sup>52</sup> eine große Zahl von Beweisen geführt: Der Zusammenhang des „Coefficient lypocytyque“ mit der Fähigkeit der Wasseraufnahme von Gewebsstücken, mit der Resistenz der roten Blutkörperchen gegen hypotonische Kochsalzlösungen mit dem tatsächlichen Wassergehalt der Gewebe bei experimentellen Hypercholesterinämien usw. Man kennt ferner den Einfluß des lipocytischen Koeffizienten auf die Senkungsgeschwindigkeit von roten Blutkörperchen (*Kürten* <sup>53</sup>) und ihre Agglutination (*Brinkmann* und *van Dam* <sup>47</sup>), auch die Unterschiede zwischen ihrer „primären“ und „sekundären“ Resistenz, d. h. der Resistenz im gewaschenen Zustand in physiologischer Kochsalzlösung und der Resistenz im Plasma usw. Vor allem aber weisen alle Forscher (s. auch *Terroin* <sup>54</sup>) darauf hin, daß innerhalb eines weiten Spannungsbezirkes der Organismus immer bestrebt ist, diesen lipocytischen Koeffizienten unverändert zu erhalten. Man versteht in genauer Definition darunter das Verhältnis Cholesterin zu Gesamtfettsäuren (besonders auch der Phosphatide), doch scheint mir nach meinen Versuchen diese Formel erweiterungsbedürftig. Sie müßte heißen: Cholesterin  $\times$  Galaktosid : Fettsäuren. Aber auch in dieser Form ist sie noch zu eng, und man wird wohl mit *Degkwitz* die allgemeine Beziehung: hydrophob zu hydrophil als entscheidend ansprechen müssen. Die Untersuchungen von *Degkwitz* stehen überhaupt auf etwas breiterer Grundlage, insofern er mit Recht betont, daß man die Zellfette nicht durch ihre quantitative Kongruenz charakterisieren kann, sondern daß die Zustandsform ausschlaggebend sei. Er stützt sich hier vor allem auf die Versuche von *Spanger* über die gegenseitige Beeinflussung der Phasenform. Grundsätzlich ist es zweifellos für die Struktur des Protoplasmas wichtiger, ob sich die Fette in Ölwasser- oder in Wasserölemulsion befinden. Aber da diese Phasenform andererseits durchaus von dem Mengenmischungsverhältnis abhängig ist, so kann man bis zu einem gewissen Grade dies doch zur Charakterisierung verwerten. Diese so schwierig erscheinenden Verhältnisse werden noch viel verworrener, wenn man bedenkt, daß nicht bloß die Lipoidmischung von sich aus den Salz- oder Wasserstoffwechsel beeinflusst, sondern daß sie selbst abhängig ist von der Elektrolyt- und Wasserstoffionenkonzentration (s. hierzu *Hueck* <sup>55</sup>). Von besonderer Bedeutung scheinen auch die Kohlehydrate, insbesondere die Glucose zu sein. Durch Glucose wird nach *Remesow* <sup>64</sup> die Stabilität eines Cholesterinsols bedeutend herabgesetzt. Es soll auch auf die Dialysierbarkeit, die elektrische Leitfähigkeit und andere kolloidchemische Eigenschaften von wesentlichem Einfluß sein. Der Ring wird durch das Eiweiß geschlossen, das hier 2 verschiedene Funktionen aufweist: einmal die kolloidale Schutzwirkung auf die Lipide und andere schwer lösliche Körper, dann aber

auch als Puffersubstanz für die H- und OH-Ionen. Vorläufig ein unübersehbares Gewirr von Fäden, von denen jedoch jeder einzelne von größter Bedeutung für das Ganze ist.

Zu diesem schwierigen Fragenkomplex liefern meine Versuche insofern einen Beitrag, als sie zeigen, daß in die Zahl der Einzelfaktoren dieser Lipoidmischung das Galaktosid als wichtiges Glied aufgenommen werden muß. Es ist nicht bloß die Tatsache, daß die Galaktoside in den meisten Organen vorkommen, sondern ich hoffe vor allem gezeigt zu haben, daß die Galaktoside die Bewegungen des Lipoidkomplexes mitmachen und von sich aus als hydrophobe Kolloide stark wirksam sind. Diese starke Wirkung, die stärker ist als die des Cholesterins, würde es vielleicht erklären, daß man z. B. bisher in den Hüllen der roten Blutkörperchen verhältnismäßig nur wenig Galaktosidmengen gefunden hat (sofern hier nicht ein methodischer Untersuchungsfehler vorliegt, der durch die eigentümlichen Lösungsverhältnisse bedingt ist). Aber es ist vor allem auch die Schutzwirkung der Galaktoside auf ein anderes hypophobes Kolloid, die — wie meine Versuche zeigen — so bedeutsam ist, daß man die Wirksamkeit der Galaktoside nicht mehr übersehen darf. Sie zeigt sich vor allem auch in der eigentümlichen Beziehung zur Schutzwirkung der Eiweißkörper, die in auffallender Weise gerade von den Galaktosiden unterstützt wird.

Aus allem, was bisher über die physikalische Chemie der Lipide bekannt ist, hat sich ergeben, daß der Organismus immer bestrebt ist, eine genau ausgewogene Gleichgewichtslage aufrechtzuerhalten; nicht nur innerhalb der Lipoidfraktionen, sondern auch im Verhältnis zu den Elektrolyten und Nicht-Elektrolyten (Eiweiß und Kohlehydrat). *Magistris*<sup>67</sup> sagt: daß „die Ergebnisse der Koagulationsversuche zu der Auffassung berechtigen, daß eine Störung in den Verhältnissen oder Zustandsformen des einen Zellbestandteiles (Lipoid, Protein, Kohlehydrat) zwangsläufig zu einer Störung des ganzen Gleichgewichts bzw. zu den entsprechenden Veränderungen der anderen Komponente führen muß“.

Hier scheint mir der Schlüssel zu liegen für das Verständnis der Galaktosid- und Phosphatidkurven in den Organen der mit Cholesterin gefütterten Kaninchen. Der Cholesterinbestandteil des Zellprotoplasmas wird willkürlich erhöht: also ändert sich der Gehalt an anderen Lipiden zur Aufrechterhaltung des Gleichgewichts. Unter diesem Gesichtspunkt findet alles — auch das Ansteigen der Galaktoside — eine einheitliche Erklärung. Freilich bleibt Ort und Art der chemisch sich vollziehenden Lipidsynthese ungeklärt, aber die Gleichmäßigkeit der Galaktosid- und Phosphatidkurve hätte in wenigstens physikalisch-chemischer Beziehung die gesetzmäßige Unterlage gefunden.

## II.

Es fragt sich weiter, welche Folgerungen aus dem vorgebrachten Versuchs- und Analysenmaterial sich auf die Frage der Entstehung der Atherosklerose ziehen lassen. Eines steht jedenfalls fest (ich wies schon in der Folgerung auf S. 412 darauf hin): die Vorrangstellung, die dem Cholesterin für die Entstehung der Atherosklerose eingeräumt wird, besteht nicht zu Recht. Wie *Anitschkow*<sup>56</sup> selbst sagt, steht im Mittelpunkt seiner „Kombinationstheorie“ der Entstehung der Arteriosklerose als auslösender Faktor die Störung des Cholesterinstoffwechsels<sup>56</sup>. Derjenige Teil der „Kombinationstheorie“, auf den es uns hier ankommt, besagt, daß es sich um eine „primäre Ablagerung von Cholesterinfetten in der normalen Arterienwand“ handelt, durch die „sekundäre Wucherungsprozesse der Fasern und Zellen hervorgerufen werden“. Diese einseitige Vorstellung hat sich nicht allgemein durchsetzen können (s. auch *Aschoff*), wenn auch gleich das von *Anitschkow* vorgebrachte Beweismaterial in mancher Beziehung bestechend erscheint. Vor allem sind es eben die in mancherlei Modifikationen durchgeführten Kaninchenversuche, durch die in deduktiver Weise das Cholesterin als unentbehrlicher chemischer Stoff uns vor Augen geführt wurde, ohne den die „Atherosklerose der Kaninchen“ nicht entstehen kann. Der hauptsächlichste Grund, um dessentwillen diese hervorragende Rolle des Cholesterins als ursächlicher Faktor bei der Atherosklerose nicht hat anerkannt werden können, ist der, daß man die Wesensgleichheit der „Atherosklerose des Kaninchens“ mit der menschlichen Atherosklerose geleugnet hat. Einmal handelt es sich nämlich um eine allgemeine Cholesterinsteatose mit begleitender Lipoideinlagerung in die Aorta, das andere Mal aber um eine primäre „Metallaxie“ (*Jorres*) der Aortenwand, einen Umbau mit begleitender Lipoidablagerung. Auf diesen grundsätzlichen Unterschied der Auffassung hier einzugehen, würde zu weit gehen, denn sie ist im wesentlichen durch die Begriffsbildung der Atherosklerose bedingt.

Aber selbst unter Anerkennung der Gleichheit scheinen mir doch meine Versuchsergebnisse schlecht in Einklang mit der Cholesterinfiltrationstheorie, in der Form, wie sie von *Anitschkow* aufgestellt ist, zu bringen zu sein. Zweifellos wäre gerade im Beginn ein überwiegendes Ablagern des Cholesterins zu fordern. Meine Tabelle I zeigt aber das umgekehrte Verhalten. Zuerst ein gleichmäßiges Ansteigen aller Lipoiden und erst mit beginnendem Zerfall eine Dissoziation des Lipoidkomplexes mit Hochschnellen der Cholesterinwerte. Man kann also nur sagen, daß mit zunehmendem Alter und zunehmender Atherosklerose der ganze Lipoidkomplex ansteigt, doch ist übrigens dieser Parallelismus keineswegs ganz durchgängig. In bezug auf die Zunahme der Phosphatide bei der Atherosklerose befinde ich mich in guter Übereinstimmung mit *Kutschera-Aichbergen*<sup>42</sup>.



Es ist jedoch keineswegs gleichgültig, ob man eine primäre Cholesterinablagerung in der Aortenwand für die Atherosklerose verantwortlich macht, oder ob man den ganzen Lipoidkomplex an dessen Stelle setzt. Denn es sind die besonderen Eigenschaften gerade des Cholesterins als hydrophobes Kolloid, die man für die Folgen verantwortlich gemacht hat. Man hat sich den Vorgang so vorgestellt, daß das Cholesterin mit den anderen Lipiden in den Bindegewebsgrundschwamm (an den Stellen besonderer mechanischer Beanspruchung) eingepreßt würde, und während die anderen Lipide im Stoffwechselgeschehen abgebaut oder abgeführt würden, sollte besonders das schwer angreifbare Cholesterin an den elastischen Grenzlamellen absorbiert bleiben. Gegen diese Vorstellung muß der gleiche Einwand erhoben werden: es müßte bei steigender Lipoidablagerung die Cholesterinkurve (besonders im Beginn) steiler ansteigen als die der anderen Lipide. Das ist nicht der Fall. Vor allem aber hat man aus der Erkenntnis heraus, wie wichtig das Cholesterin für die Entstehung der Atherosklerose sei, eine Erklärung auf dem Umweg über die Blutdruckerhöhung gesucht. Man hat nämlich festgestellt, daß sowohl an den herausgeschnittenen Arterienstreifen als auch in vivo das Cholesterin die Wirkung des Adrenalins unterstützt (*Westphal-Schmidtman* <sup>57, 58</sup>). *Schmidtman* hat sogar bei Cholesterinfütterung eine Blutdruckerhöhung beim Kaninchen feststellen wollen und diese mit für die Atherosklerose verantwortlich gemacht. Diese letzten Befunde konnten allerdings nicht überall bestätigt werden (*Thöldte* <sup>59</sup>). Allein so richtig sie an sich auch sein mögen, so wenig haben sie etwas mit der ersten Entstehung der Atherosklerose des Menschen zu tun. Denn einmal sind die Cholesterinwerte im Blut nur bei schwerer, ausgeprägter Atherosklerose erhöht und zweitens überwiegt im Beginn auch unter den in der Aortenwand abgelagerten Lipiden das Cholesterin keineswegs. Dazu kommt noch, daß wir an den Kaninchen, wo alle die theoretisch vorausgesetzten Bedingungen gegeben sind, im Beginn der Cholesterinfütterung ein ganz erhebliches Überwiegen der übrigen Lipide über das Cholesterin haben feststellen können, so daß hierauf die Erklärungsversuche ganz sicherlich nicht anwendbar sind.

Meine Befunde an menschlichen Aorten stehen teilweise im Gegensatz zu den Befunden *Schönheimers* <sup>18</sup>, die ja auch *Aschoff* <sup>60</sup> als Beweismittel zur Infiltrationstheorie mit heranzieht.

Insofern ergeben allerdings meine Zahlen das gleiche wie die von *Schönheimer*: die Höhe der Cholesterinwerte richtet sich nicht so sehr nach dem Alter als nach der Schwere der Erkrankung der Aorta. Eben hieraus habe ich ja im Vergleich mit den Phosphatid- und Galaktosidwerten einen anderen Schluß gezogen als *Schönheimer*. Aber es ist doch zu bedenken, daß *Schönheimer* seine Phosphatid- und Cholesterinwerte auf den Gesamtätherextrakt bezieht, während für mich das Trockengewicht der Aorta das tertium comparationis ist. Und hierzu glaube

ich mich trotz der Einwände *Schönheimers* berechtigt. Denn mir kommt es lediglich darauf an, zu wissen, in welchem Verhältnis die Fraktionen des Lipoidkomplexes, der in einer bestimmten Menge Aortensubstanz enthalten ist, zueinander stehen. Freilich entspricht das nicht der ganzen Aorta, aber doch immer einem solchen Teil, der bei den verschiedenen Aorten einander ungefähr entspricht. Größerer Anspruch auf Genauigkeit kann dabei natürlich nicht gestellt werden. Die Genauigkeit wird aber dadurch nicht größer, wenn man statt dessen das Gewicht des Ätherextraktes zugrunde legt, der ja doch auch einer bestimmten Menge Aortentrockensubstanz entspricht.

Es kommt noch hinzu, daß *Schönheimer* ausschließlich eine Extraktion mit Äther vorgenommen hat, die auch bei noch so langer Dauer niemals erschöpfend sein kann. Über diesen Punkt besteht ein ausgedehntes Schrifttum, auf das einzugehen hier nicht der Ort ist. Hierdurch erklären sich möglicherweise auch einige Unterschiede in den Befunden.

Vor allem aber kann ich speziell der *Schönheimerschen* Arbeit keine Stütze der Infiltrationstheorie entnehmen, denn wenn sich auch seine auf Ätherextrakt bezogenen Werte nicht mit den bekannten Blutwerten unmittelbar und vollständig vergleichen lassen, so weiß man doch, daß das Verhältnis von Phosphatiden zu Cholesterin (Ester) in ähnlicher Weise (Cholesterin 55—60% zu Phosphatid 5,7%) im Blut oder Plasma nicht vorkommt. Seine Zahlen zeigen überdies ein isoliertes Ansteigen der Cholesterinester, bei relativer Konstanz des freien Cholesterins.

Andererseits lassen sich auch aus keinem der bisher angestellten chemischen Untersuchungen Beweise gegen die Infiltrationstheorie entnehmen. Ganz gewiß auch nicht aus meinen eigenen Befunden. Meine Werte entsprechen, besonders im Beginn, noch mehr denen des Plasmas als die *Schönheimerschen*. Aber Vergleiche zwischen abgelagertem Lipoid im Gewebe und solchem im strömenden Blut lassen sich überhaupt nicht ziehen. Im ganzen entspricht meine Lipoidkurve mit ihrem gleichmäßigen Ansteigen den Befunden, die man über das Cholesterin in den Geweben mit zunehmendem Alter erhoben hat (*Bürger* und *Schlomka*<sup>61</sup>). Gemäß den heute herrschenden Anschauungen über die Ablagerung von Lipoiden in den Organen wird man also — wie *Aschoff* das ja betont hat — auch diese Lipoidanreicherung auf eine Infiltration zurückführen müssen. Worin sich jedoch die Lipoidinfiltration in der Aortenwand von der in anderen Organen unterscheidet, ist das quantitative Überwiegen des Cholesterins. Durch meine Untersuchungen glaube ich jedoch gezeigt zu haben, daß dies unterscheidende Merkmal erst für die fortgeschrittenen Stadien zutrifft. Man wird also den Beginn der Lipoidinfiltration nicht anders beurteilen können als den bei anderen Stützsubstanzen auch, wird ihn also als Zeichen dystrophischer Altersveränderung, nicht aber als Ursache für die Atherosklerose ansprechen dürfen. Die bevorzugte Cholesterinesterablagerung wird man als eine

Folge betrachten müssen. Auch *Aschoff* betont ausdrücklich die oft zu beobachtende Unabhängigkeit der Lipoidablagerung von den Intimawucherungen und wendet sich gegen die Lehre, den ganzen Atheroskleroseprozeß bloß als ausgleichenden Wucherungsvorgang über Lipoid- oder Kalkherden anzusprechen. Er hebt hervor, daß die Verfettung der Intima kein Zeichen des absteigenden oder senilen Zeitabschnitts des Gefäßlebens ist, die selbst in ursächlichem Zusammenhang mit der Atherosklerose steht. Andererseits scheint es aber auch nicht nötig, die Lipoidinfiltration als „abnormen Einpressungsvorgang“ aufzufassen, denn sie entspricht ihrer chemischen Natur (nach meinen Versuchen) durchaus der Alterszunahme im Stützgewebe überhaupt, derentwegen die Atherosklerose ja auch nicht bloß als Alterserkrankung der Gefäße, sondern der allerverschiedensten Stützsubstanzen bezeichnet wird (*Aschoff*).

Vor allem aber bin ich durch meine Untersuchungen zu der Überzeugung gelangt, daß man die „Atherose des Menschen“ *nicht* als eine „Cholesterinsteatose“ bezeichnen darf, sondern nur als „Lipoidsteatose“ schlechthin. Wodurch allerdings gerade das Cholesterin sekundär zum Niederschlag kommt, bleibt ungeklärt, doch entspricht dies ja vielfachen Erfahrungen der allgemeinen Pathologie bei degenerativen Vorgängen überhaupt.

Es bleibt jedoch die sichere Tatsache bestehen, daß eine „Kaninchenatherosklerose“ nur dann entsteht, wenn neben anderen Fetten auch Cholesterin verfüttert wird. Aber seine Wirkungsweise ist doch offenbar keine unmittelbare (Einpressung in die Aortenwand), sondern eine mittelbare. Denn nur dann ist das verfütterte Cholesterin wirksam, wenn es zur Ausbildung einer Lipämie kommt, für die ein bestimmtes Verhältnis von Cholesterin und Fetten Grundbedingung ist (*Versé*<sup>62</sup>). Wodurch das Cholesterin die Lipämie hervorruft, ist noch keineswegs geklärt. *Versé* weist hier zuerst auf eine Möglichkeit hin, die in neuerer Zeit immer mehr in den Vordergrund rückt: die kolloidchemischen Bedingungen. Er spricht in seiner Arbeit über die experimentelle Lipo-Cholesterinämie von einer Cholesterinumhüllung des Neutralfettes, durch die dessen Resorptionsbedingungen verschlechtert würden. Diese Vorstellung ist allerdings eine mögliche Erklärung der Dauerlipämie nur dann, wenn dabei das Mitansteigen der übrigen Lipoide unberücksichtigt bleibt. Denn durch diese wird ja die kolloidale Löslichkeit des Cholesterins und der Fettsäuren verhältnismäßig erhöht, ihre Diffusion durch Zellmembranen usw. verbessert. Wir müssen uns heute mit der Tatsache begnügen, daß eine Erhöhung des Cholesterins, die mit einer Vermehrung der übrigen Lipoide und Fette verknüpft ist, keine verschlechterten kolloidalen Lösungsverhältnisse nach sich zieht. Die Versuche von *Spanger*<sup>43</sup> zeigen, daß es für die Phasenform der Öl-Wassermischung ein Optimum der Lipoidmischung gibt; meine eigenen Versuche zeigen unter Berück-

sichtigung der Galaktoside grundsätzlich das gleiche, und die Versuche von *Degkwitz*<sup>44</sup> dehnen diese Beziehungen auch auf die biologische Wirksamkeit aus. Aber ich glaube doch, daß es zu weit gegangen ist, wenn man diese Tatsachen ursächlich miteinander verknüpft. Man ist noch nicht berechtigt, zu sagen: weil das Cholesterin ansteigt, müssen die anderen Lipide mitansteigen. Hier liegt keine gesetzmäßige, sondern eine bisher lediglich teleologische Verknüpfung vor. Immerhin wird man diese Vorstellung als beste Arbeitshypothese ansprechen können.

Unter diesem Gesichtswinkel können wir uns denken, daß das Cholesterin bei Verfütterung an Kaninchen eine Lipoidämie nach sich zieht (sofern es durch die Beigabe von Neutralfetten zur Resorption gelangt), die zunächst eine gewaltige Mobilisierung von Phosphatiden und Galaktosiden bedingt. Dieses Lipoidgemisch gelangt zur Resorption an den bekannten Stellen im Sinne der „Lipoidose“ *Anitschkows*. Insofern ist das Cholesterin notwendig zum Zustandekommen der Kaninchen-atherosklerose. Insofern gleichen sich auch die Lipoidablagerungen beim Kaninchen und die der menschlichen Aorta: primär handelt es sich um ein Lipoidgemisch. Sekundär kann dann ein Zerfall des Atheroms, eine Dissoziation des Gemisches stattfinden mit Anreicherung von Cholesterin.

Auch für die menschliche „Atherose“ ist diese „Hilfsstellung“ des Cholesterins denkbar:

Ohne daß es zu einer Vermehrung der Menge des Cholesterins zu kommen braucht, werden doch die Löslichkeitsbedingungen im Plasma so verändert (s. auch *Remesow*<sup>64</sup>), daß es entsprechend den oben ausgeführten Vorstellungen zu einer Vermehrung aller Lipide kommt, d. h. zu einer Ausschwemmung ins Blut. Als Gesamtkomplex, der zweifellos in abnormem („verschlechtertem“) Verhältnis zu den Eiweißkörpern steht, werden dann die Lipide in die Stützsubstanz abgelagert, um das Gleichgewicht aufrechtzuerhalten.

Als Ursache für die Verschlechterung der Lösungsbedingungen kommen unübersehbare Faktoren in Frage: Die Fraktionsverschiebungen der Eiweißkörper (Albumine und Globuline) und vor allem auch das von *Hueck* in letzter Zeit in den Vordergrund geschobene H- und OH-Ionengleichgewicht und die Erhöhung des Zuckerspiegels.

Keineswegs wird man das Cholesterin als Ursache ansprechen dürfen. Im Gegenteil bin ich durch meine Versuche zu der Überzeugung gelangt, daß es als ein Teil des gesamten Lipoidkomplexes in die Aortenwand abgelagert wird, so wie mit zunehmendem Alter eben überhaupt vermehrter Lipoidgehalt (Cholesteringehalt) in den Stützgeweben nachzuweisen ist. Es verhält sich hier nicht anders als Phosphatid und Galaktosid.

Ich stelle mir die „Alterslipoidose“ als einen Ausgleichsvorgang vor, zur Aufrechterhaltung des Lipoidgleichgewichtes im Plasma. Wenn die

kolloidalen Lösungsbedingungen der Lipide verschlechtert werden, kommt es zu einer Vermehrung der schützenden hydrophilen Lipide (möglicherweise auch des Galaktosids?), und um die Höhe des Gesamtlipoidspiegels aufrechtzuerhalten, wird (teleologisch gedacht) Lipoid im Stützgewebe abgelagert. Vielleicht liegt auch der eigentliche Grund zur Ablagerung in den Bindegewebsschwamm darin, daß bei der vermehrten sauren Reaktion desselben im Alter (*Schmidtman*<sup>63</sup>) eine Ausfällung der erhöhten Lipoidmenge zustande kommt. Ganz die gleichen Verhältnisse haben wir auch in der Aortenwand, allerdings noch mit mechanischen Lokalisationsbedingungen verknüpft. Es liegt nach meinen chemischen Angaben kein zwingender Grund vor, hier ein besonderes Einpressen annehmen zu sollen. Erst später, wenn der eigentliche Zerfallsvorgang zustande kommt, dissoziiert das Lipoidgemisch. Aber zweifellos sind das sekundäre Vorgänge.

So würden sich nach diesen Vorstellungen „Kaninchenatherosklerose“ und Menschenatherosklerose insofern gleichen, als beide eine Lipoidose darstellen: die eine eine Alterslipoidose, die andere eine durch Cholesterin künstlich hervorgerufene. Eine Erklärung aber für das unterscheidende Moment, das wir als Wesenseigentümlichkeit für die menschliche Atherosklerose ansprechen müssen: Die Metallaxie der Arterienwand, kann durch die Erforschung der Lipoideinlagerung nicht gegeben werden. Es soll jedoch noch einmal ausdrücklich darauf hingewiesen werden, daß alle diese Überlegungen rein arbeitshypothetischer Natur sind. Die hier vorgebrachten Vorstellungen sind nicht dazu angetan, sich an die Stelle einer gut begründeten Theorie zu setzen. Ihre Aufgabe kann es nur sein, darauf hinzuweisen, daß neben den bekannten auch noch andere Bedingungen zu berücksichtigen sind, die möglicherweise dem Ganzen ein verändertes Aussehen verleihen können.

### Ergebnis.

1. Die überragende Bedeutung des Cholesterins für die Entstehung der Atherosklerose wird in Zweifel gezogen. Im Verhältnis zu den anderen Lipiden findet nämlich eine vermehrte Ablagerung erst statt, wenn es zu Zerfallsvorgängen in der Aortenwand kommt.

2. Bei der Cholesterinsteatose der Kaninchen kommt es zu einer gleichmäßigen Vermehrung aller Lipoidfraktionen.

3. In physikalisch-chemischer Beziehung kommt den Galaktosiden eine erhebliche Bedeutung zu und sie dürfen bei der Betrachtung der diesbezüglichen Verhältnisse nicht außer acht gelassen werden. Sie nehmen eine Mittelstellung zwischen hydrophoben und hydrophilen Kolloiden ein.

## Schrifttum.

- <sup>1</sup> Müller, W.: Liebigs Ann. **105**, 361. — <sup>2</sup> Thudichum: Die chemische Konstitution des Gehirns. Tübingen 1901. — <sup>3</sup> Thierfelder: Die Cerebroside. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Bd. 1, Teil 6, S. 145. — <sup>4</sup> Rosenheim: Biochem. J. **7**, 604 (1913); **8**, 110 (1914). — <sup>5</sup> Mac Lean: Lecithin and allied substances. London 1918. — <sup>6</sup> Lorrain, Smith and Mair: J. of Path. **15**—**17** (1910—1913). — <sup>7</sup> Noll: Hoppe-Seylers Z. **27**, 370 (1899). — <sup>8</sup> Winterstein u. Hirschberg: Biochem. Z. **159**, 351 (1925). — <sup>9</sup> Kimmelstiel: Mikrochem. Pregl-Festschr. **1929**, 165. — <sup>10</sup> Rosenheim: Biochem. J. **8**, 110 (1914). — <sup>11</sup> Brigl: Hoppe-Seylers Z. **95**, 161 (1915). — <sup>12</sup> Levene u. West: J. of biol. Chem. **31**, 649 (1917). — <sup>13</sup> Thierfelder: Hoppe-Seylers Z. **85**, 35 (1913). — <sup>14</sup> Levene u. West: J. of biol. Chem. **31**, 649 (1917). — <sup>15</sup> Rosenheim u. Tebb: J. of Physiol. **38**, Proc. 54 (1909). — <sup>16</sup> Hoppe-Seyler: Medizinisch-chemische Untersuchungen, Bd. 4, S. 495. Berlin: August Hirschwald 1871. — <sup>17</sup> Kossel u. Freytag: Hoppe-Seylers Z. **17**, 452 (1893). — <sup>18</sup> Schönheimer: Hoppe-Seylers Z. **177**, 143 (1928). — <sup>19</sup> a) Bang u. Forssmann: Beitr. chem. Physiol. u. Path. **8**, 238 (1906); — b) Pascucci: Beitr. chem. Physiol. u. Path. **6**, 543 (1905). — <sup>20</sup> Hammarsten: Hoppe-Seylers Z. **32**, 446 (1901). — <sup>21</sup> a) Hoppe-Seyler: Medizinisch-chemische Untersuchungen, Bd. 4, S. 495. Berlin: August Hirschwald 1871. — b) Kossel u. Freytag: Hoppe-Seylers Z. **17**, 452 (1893). — <sup>22</sup> Bamberger u. Landsiedel: Mh. Chem. **26**, 1109 (1905). — <sup>23</sup> Sullivan: Chem. Zbl. **1918**, I, 632. — <sup>24</sup> Smith u. Mair: J. of Path. **17**, 619 (1913); **17**, Proc. 123 (1912); **17**, Proc. 418 (1912). — <sup>25</sup> Singer: Biochem. Z. **179**, 432; **198**, 340 (1928). — <sup>26</sup> Singer u. Deutschberger: Biochem. Z. **198**, 328 (1928). — <sup>27</sup> Thierfelder: Hoppe-Seylers Z. **85**, 35 (1913). — <sup>28</sup> Epstein: Biochem. Z. **145**, 398 (1924); Virchows Arch. **1929**, 294. — <sup>29</sup> Lieb: Hoppe-Seylers Z. **140**, 305 (1925). — <sup>30</sup> Lieb u. Mladenovic: Hoppe-Seylers Z. **189**, 208 (1929). — <sup>31</sup> Kaufmann u. Lehmann: Virchows Arch. **261**, 623 (1926) u. **270**, 360 (1928). — <sup>32</sup> Jungmann u. Kimmelstiel: Biochem. Z. **212**, 347 (1929). — <sup>32a</sup> Kimmelstiel: Biochem. Z. **212**, 359. — <sup>33</sup> Kumagawa u. Suto: Biochem. Z. **8**, 212 (1908). — <sup>34</sup> Rosenfeld: Verh. dtsch. path. Ges. **1903**; Erg. Physiol. **2**, 1. — <sup>35</sup> Rumpf u. Dennstedt: Z. klin. Med. **58** (1906). — <sup>36</sup> Orgler: Virchows Arch. **176** (1904). — <sup>37</sup> Landsteiner u. Mucha: Zbl. Path. **15** (1904). — <sup>38</sup> Löhlein: Virchows Arch. **180** (1909). — <sup>39</sup> Klemperer: Dtsch. med. Wschr. **1909**. — <sup>40</sup> Dietrich: Lubarsch-Ostertag 1910. — <sup>41</sup> Shibata u. Endo: Biochem. Z. **37**, 399 (1911). — <sup>42</sup> Kutschera-Aichbergen: Verh. dtsch. path. Ges. **1925**, 133. — <sup>43</sup> Spanger: Biochem. Z. **208**, 164 (1929). — <sup>44</sup> Degkwitz: Klin. Wschr. **1929**, 2224. — <sup>45</sup> Bechold: Münch. med. Wschr. **1921**, 127. — <sup>46</sup> Brinkmann u. van Dam: Biochem. Z. **108**, 35. — <sup>47</sup> Brinkmann u. van Dam: Biochem. Z. **108**, 52 u. 61. — <sup>48</sup> a) Giercke: Beitr. path. Anat. **82**, 497. — b) Schönheimer: Hoppe-Seylers Z. **182**, 148 (1929). — <sup>49</sup> Kimmelstiel: Hoppe-Seylers Z. **148**, 143 (1929). — <sup>50</sup> Wacker u. Hueck: Biochem. Z. **100**, 84 (1919); Arch. f. exper. Path. **74**, 416 (1913). — <sup>51</sup> Kimmelstiel: Krkh.forschg **5**, 403. — <sup>52</sup> Meyer u. Schaeffer: J. Physiol. et Path. gén. **16**, No 1, 1, 23, 203, 325. — <sup>53</sup> Kürten: Pflügers Arch. **185**, 248. — <sup>54</sup> Terroin: J. Physiol. et Path. gén. **16**, No 1, 212, 386, 408. — <sup>55</sup> Hueck: Verh. dtsch. path. Ges. **1925**. — <sup>56</sup> Anitschkow: Verh. dtsch. path. Ges. **1925**, 149; Beitr. path. Anat. **56**; Allrussische Pathologentagung **1923/25**. — <sup>57</sup> Westphal: Z. klin. Med. **101**, 545 usf. — <sup>58</sup> Schmidtman: Verh. dtsch. path. Ges. **1925**. — <sup>59</sup> Thöldte: Zbl. Path. **38**, 590 (1926) Ref. — <sup>60</sup> Aschoff: Bh. med. Klin. **1930**, H. 1. — <sup>61</sup> Bürger u. Schlomka: Klin. Wschr. **1929**, Nr 41. — <sup>62</sup> Versé: Beitr. path. Anat. **63**, 789 (1916). — <sup>63</sup> Schmidtman u. Hüttich: Virchows Arch. **267**. — <sup>64</sup> Remesow: Biochem. Z. **218**, 86—191 (1930). — <sup>65</sup> Klenk: Hoppe-Seylers Z. **145**, 1966. — <sup>66</sup> Thierfelder u. Klenk: Die Chemie der Cerebroside und Phosphatide. Berlin: Julius Springer 1930. — <sup>67</sup> Magistris: Die Lipide. Erg. Physiol. **31** (1931). — <sup>68</sup> Leathes: J. of Physiol. **58**, Proc. 6 (1923).