

(Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Ung. Tisza István-Universität Debrecen, Ungarn, [Direktor: Dr. A. v. Jeney, o. ö. Prof.] und aus dem Anatomischen Institut derselben Universität [Direktor: Dr. L. v. Jankovich, o. ö. Prof.] )

## **Die Wirkung von Aminosäuren und anderen biochemischen Produkten auf die Entwicklung des Hühnerembryos.**

### **Ein neues Verfahren zum Studium der die Blutbildung beeinflussenden Reize.**

Von

**A. v. Jeney und E. Törö.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 18. Oktober 1935.)

Der ursprüngliche Zweck der zu besprechenden Versuche war, ein solches Verfahren zu finden, welches in einfacher Weise und womöglichst kurzer Zeit eine Orientierung und Vergleichung der wirksamen Beschaffenheit irgendeines blutbildenden Reizes erlaubt. Die Blutzellen des sich in dem Ei entwickelnden Huhnes bilden sich schon am zweiten, dritten Tage der Entwicklung aus den Bestandteilen des Eies. Schon bevor es gelegt ist, befindet sich das befruchtete Ei im Anfangsstadium der Gastrulation. Bis zu diesem Grade entwickelt es sich auf Wirkung der Körpertemperatur während des Durchgangs durch den Eileiter. In dem gelegten Ei ist die Entwicklung unterhalb von 25° C zu vollständigem Stillstand gebracht und wird nur durch die natürliche oder künstliche Bebrütung fortgesetzt. Die ersten primitiven Blutzellen und Blutadern erscheinen außer dem Körper des Embryos in der Area opaca, an deren caudalem Ende, in Form der sog. Blutinseln, gesetzmäßig von dem Moment an, in welchem das Mesoderma die Wand der Gastrula verläßt. Diese Blutinseln sind anfangs dichte, fixe Zellgruppen, aus denen sich durch die Verflüssigung der in der Mitte stehenden Zellen das Gefäßlumen und das Blutplasma entwickelt. Die am Rande liegenden Zellen ordnen sich nebeneinander, bilden endotheliale Wände und die durch sie eingeschlossenen mobilisierten Zellen verwandeln sich in primitive Blutzellen. Nach *Sabins* Beschreibung bilden sich die Adern nicht auf diese Weise, sondern die Bildung des Aderlumens wird durch intracelluläre Verflüssigung in Gang gesetzt. Die Blutinseln verbreiten sich weiter, die in ihnen gebildeten Capillare treten miteinander in Verbindung, bilden ein Capillarnetz, das sich allmählich über die Area pellucida gegen das Embryo verbreitet. Die Hauptadern entwickeln sich, zuerst der Sinus terminalis in der 50. Stunde, dann die Arteriae und Venae omphalentericae ungefähr in der 60. Stunde. Letztere treten mit dem Embryo

bald in Verbindung. Die im bebrüteten Ei sichtbaren Erscheinungen sind also auch für das Studium der Blutregeneration äußerst geeignet. *Fl. Sabin* verwendete als erste die aus dem bebrüteten Ei explantierten Blastodermata für das Studium der Histogenese der Zellelemente des Blutes und der Blutadern. Sie beobachtete durch 24—48 Stunden hindurch die Blutbildung an in künstlicher Umgebung gehaltener Keimscheibe, doch versuchte sie nicht die Blutbildung durch Einbringung verschiedener Stoffe in die in situ liegende Keimscheibe zu beeinflussen. Die ersten Versuche in dieser Richtung wurden durch einen von uns (*J.*) noch in Szeged mit Dr. *N. Veress* ausgeführt. Das Verfahren des mit Dr. *Emerich Törö* in Debrecen fortgesetzten Versuches wurde einigermaßen modifiziert, und zwar folgenderweise: Die Eischale wurde mit

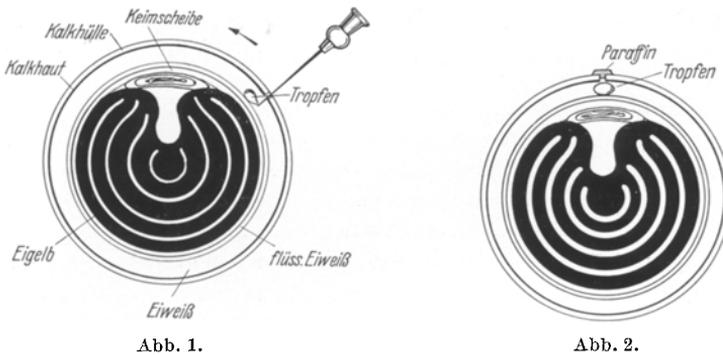


Abb. 1.

Abb. 2.

Benzin gründlich abgewischt und dann an einer gut ausgewählten Stelle mit einem zugespitzten Instrument durch Klopfen auf ein und derselben Stelle eine punktförmige Öffnung gemacht, durch welche eine dünne Injektionsnadel leicht einzuführen war und so das Einbringen des zu untersuchenden Stoffes ermöglicht wurde. In Vorversuchen wurde von *Törö* festgestellt, daß sich für die Behandlung am besten durch 40 Stunden hindurch bebrütete Eier eignen. In früherem Stadium kann man nach ähnlichem Eingriff auf das Lebendbleiben des Embryos nicht so bestimmt rechnen. Nachdem die Größe der Keimscheibe uns in diesem Stadium bekannt wurde, wählten wir die Stichstelle am oberen Teil des Eies, außer dem Gebiet der Keimscheibe, doch möglichst nahe zu dieser. Von dem Untersuchungstoffe führten wir immer je 1 Tropfen ein mit Injektionsnadeln von gleicher Größe. Nach der Einspritzung drehten wir das Ei *sofort* so um, daß sich die Öffnungsstelle oben befand, die wir dann mit Paraffin verschlossen. Dadurch erzielten wir, daß die Keimscheibe unter den Tropfen des untersuchten Stoffes unter dem Kalkhäutchen gelangte und so die Wirkung auf die Entwicklung und Blutbildung des Embryos ungestört zur Geltung kommt (s. Abb. 1 und 2).

Um die erwarteten Veränderungen zu erkennen und sie miteinander vergleichen zu können, war es nötig, die durchbohrten, doch nicht behandelten, bzw. nur mit Tyrode-Lösung behandelten Eier im verschiedenen Stadium der Bebrütung durch ein binoculares Mikroskop zu beobachten und einige charakteristische Befunde festzulegen, da diesbezügliche genaue, an Zeit gebundene Angaben in dem Schrifttum nur unzulänglich zu finden sind.

1. Stadium nach 40 Stunden: 8 Paar Ursegmente, die Augenblasen entwickelt. Blutinseln in der Area opaca in Form von dichter Granulierung.

2. Stadium nach 50 Stunden: 13 Paar Ursegmente, Sinus terminalis entwickelt, die Blutinseln bilden an den caudalen Enden der Area opaca schon ein Adernetz. Neuere Blutinseln am Seitenteil der Area opaca.

3. Stadium nach 60 Stunden: 23 Paar Ursegmente, das ursprünglich rohrförmige Herz ist gebogen, im Sinus terminalis ist Blut zu sehen, die Anlage der Vasa omphaloenterica ist entwickelt und die Krümmung des Kopfes macht sich bemerkbar.

4. Stadium nach 66 Stunden: 29 Paar Ursegmente, die Nackenbiege und die Vasa omphaloenterica sind ausgeformt.

5. Stadium nach 70 Stunden: Die Ursegmente sind schon nur in Schnitten zählbar, die Hirnblasen sind schon geformt.

6. Stadium nach 80 Stunden: Die Rückenbiege und Schwanzknospe ist ausgebildet.

7. Stadium nach 86 Stunden: Der Augenbecher ist im Begriffe sich zu schließen, starke Rückenbiege.

8. Stadium nach 90 Stunden: Die Extremitätenknospen treten hervor.

Das Öffnen der behandelten und unbehandelten Eier und die Beobachtung der Blastodermata geschah nach weiterer 46stündigen Bebrütung, so daß die Embryonen insgesamt 86 Stunden alt waren. Die Beobachtung in späterem Stadium wäre durch den Umstand erschwert worden, daß das Präparat während des Öffnens der Eier wegen der Größe der Blastodermata leicht zum Opfer gefallen wäre. Die 86stündigen Embryos beobachteten wir in nativem Zustand mit Stereomikroskop. In Betracht nahmen wir die Größe und Entwicklung des Embryos und der Area vasculosa, die Farbe und Menge des sich in ihnen befindenden Blutes. Die abgetrennten Blastodermata konservierten wir in Jores-Flüssigkeit. Die Präparate wurden nach Fixierung teils mit Hämalaun oder nach Giemsa gefärbt, teils zum Zweck späterer histologischer Untersuchungen eingebettet.

Vorerst wurden verschiedene Aminosäuren und biologische Produkte untersucht, da einer von uns (*J.*) in seinen vorigen Versuchen die Wirkung dieser Stoffe an überlebenden Knochenmarkstücken prüfte und einige charakteristische Erscheinungen beobachten konnte. In den

2 Versuchsreihen verwendeten wir insgesamt 692 Eier. Von ihnen erwiesen sich 332 als unfruchtbar. Letztere wurden nicht mitgerechnet. Das sich auf eine Stoffart beziehende Ergebnis stellten wir wenigstens auf Grund von 5 nicht unfruchtbarer Eier fest.

In der Versuchsreihe I beobachteten wir die Entwicklung der Blastodermata mit 30 nur durchbohrten, aber nicht chemisch behandelten Kontrolleiern an insgesamt 256 Eiern.

#### A. Die Entwicklung des Embryos.

1. War nahezu *normal* nach Anwendung von: Glutaminsäure, Histidin, d.l. Phenylalanin, Thyrosin, d-Lysin, Methylguanidin, Kreatin, Putrescin.

2. *Besser* entwickelt war der Embryo auf Wirkung von: Arginin, Leucin und Valin. *Genügend* entwickelt war er auf Prolin, Glutathion und Asparaginsäurewirkung.

3. Der Embryo blieb in der Entwicklung *zurück* auf Wirkung von: Glykokoll, Cystin, Cystein, Isoleucin, d.l. Serin, Cadaverin.

4. Das Embryo ging *zugrunde* im Falle der Anwendung von: Ornithin, Tryptophan und Kreatinin.

#### B. Die Area vasculosa.

1. War von *normaler* Größe nach Anwendung von: Glutaminsäure, Asparaginsäure, Histidin, Methylguanidin, Agmatin, d.l. Phenylalanin, Putrescin, Cystin, Thyrosin, Isoleucin, Glutathion.

2. *Besser* entwickelt als gewöhnlich nach Anwendung von: Arginin, Leucin, Kreatin, Valin, d-Lysin.

3. *Weniger* entwickelt als gewöhnlich war sie auf Wirkung von: Glykokoll, Cystein, Prolin, d.l. Serin und Cadaverin.

#### C. Die Zahl und Geräumigkeit der Adern.

1. *Stärkere* Entwicklung als gewöhnlich auf Wirkung von Valin.

2. *Geringere* Entwicklung als gewöhnlich auf Wirkung von: Agmatin, Glykokoll, Cystein, Cystin, Thyrosin, Isoleucin, Cadaverin.

#### D. Die Farbe des Blutes.

*Blasser* als im Durchschnitt nach Anwendung von: Glutaminsäure, Agmatin, d.l. Phenylalanin, Kreatin, Glykokoll, Cystein, Thyrosin, Isoleucin und Cadaverin.

*Normal* auf Wirkung von: Asparaginsäure, Arginin, Histidin, d.l. Valin, Cystin, Methylguanidin, Putrescin.

Zur Darstellung der Entwicklungsunterschiede führen wir folgende Beobachtungsergebnisse an:

1. *Arginin*-Verabreichung: Rückenbiegung ausgesprochener, Extremitätenknospe schon entwickelt, die Area vasculosa größer.

2. *Valin*-Verabreichung: Extremitätenknospe entwickelt, die Area vasculosa größer, das Adernsystem entwickelter.

3. *Cystin*-Verabreichung: Die Area vasculosa ungefähr normal groß, aber an Adern ärmer; der Augenbecher nicht geschlossen, die Rückenbiegung und Hirnblasen weniger entwickelt.

4. *Isoleucin*-Verabreichung: Gleich dem vorigen Embryo.

5. *Cadaverin*-Verabreichung: Die Hirnblasen weniger entwickelt, die Rückenbiege ebenfalls, die Adern enger, die Blutfarbe blasser.

6. *Kynurensäure*-Verabreichung: Die Area vasculosa kleiner, die Adernzahl, der Augenbecher, Hirnblasen, Rückenbiege weniger entwickelt.

In der Versuchsreihe II verarbeiteten wir 104 fruchtbare Eier; das auffallendste Ergebnis sahen wir nach Verabreichung von *gelöstem Hühnerblut*. Das aus der Flügelvene entnommene Blut wurde zentrifugiert, die roten Blutkörperchen vom Plasma getrennt, in dest. Wasser gelöst und abermals zentrifugiert. Der mit dem stromafreien homologen Hämoglobin behandelte Embryo wies im Vergleich mit dem normalen einen weitaus überlegenen Entwicklungszustand auf. Auch die Lendenbiegungen und die Schwanzknospen waren schon stark entwickelt. Die Herzvorhöfe bildeten sich. In den Augen erschien Pigment. In dem reichen Adernetz der Area vasculosa befand sich Blut von lebhaft roter Farbe.

Einen besser entwickelten Embryo fanden wir auch nach *Globin*-Verabreichung: Die Lendenbiegung befand sich in Entwicklung, die Schwanz- und Extremitätenknospen waren auch gut entwickelt, die Area vasculosa war größer, die Blutfarbe lebhaft rot.

Ein ähnliches Bild bekamen wir nach Anwendung von aus *Rindleber* hergestelltem *eiweißfreien Extrakt*. Die Rückenbiege des Embryos war ausgesprochener, die Hirnblasen entwickelter als gewöhnlich. Die Anlagen der Extremitätenknospen zeigten sich schon, die Area vasculosa war größer als gewöhnlich, innerhalb ihres Gebietes war die Blutfarbe lebhaft rot. Aus dem *Perhepar-Präparat (Richter)* wurde der etwa vorhandene Alkohol und Aceton durch Erwärmen im Wasserbad verjagt. Die mit diesem Stoff behandelten Embryonen waren ebenfalls etwas besser entwickelt, die Rückenbiege war stärker ausgeprägt, das Adernetz zeigte stärkere Entwicklung und auch die Extremitätenknospen zeigten sich schon.

Im Vergleich mit den Kontrollen zeigte nach *Bilirubinverabreichung* weder der Embryo, noch das Adernsystem einen Fortschritt. Es war eher ein Rückschritt in der Entwicklung der Hirnblasen zu beobachten, der Augenbecher war noch geöffnet, die Area vasculosa war ebenfalls kleiner und ihre Adern entschieden blasser, als bei den Kontrollfällen.

In einer Versuchsreihe wurde auch filtrierter und durch Kochen sterilisierter Speichel von 4 Menschen der Untersuchung unterzogen. Alle 4 Personen waren Nichtraucher und fühlten sich vollkommen gesund. In der Hälfte der Fälle bot die Entwicklung des Embryos und des

Adernsystems, sowie die Blutfarbe Grund zur Feststellung eines erhöhten Entwicklungsgrades. Beim Falle des Speichel 7 entspricht z. B. der Zustand der Blastoderma ungefähr jenem Bilde, das wir nach Globinbehandlung sehen konnten.

Besonders auffallend wirkte der Befund, daß in mit 4 ähnlicherweise filtrierten und sterilisierten Speicheln ausgeführten Versuchsreihen die Embryonen in ihrer Entwicklung zurückblieben und nach Zufuhr des Speichels in einem Teil der Fälle die schon in Entwicklung begriffenen Embryos eingingen. Der zu diesen Versuchen verwendete Speichel stammte von an *Anaemia perniciosa* erkrankten Personen.

### Besprechung.

Die entwicklungsantreibende Wirkung des Arginins steht in Einklang mit den einschlägigen neueren Ergebnissen (*Edelbacher, Merz 1927, Edelbacher, Koller 1934, Jeney 1934*). Im Hühnerembryo ist die Arginase-tätigkeit anfangs sehr stark, nimmt nur am 4.—5. Tag der Bebrütung ab. Die Entwicklungsgeschwindigkeit des Embryos nimmt während der Bebrütung ebenfalls allmählich ab. Der Arginasegehalt der Gewebe steht allem Anschein nach übrigens auch in geradem Verhältnis zu der Zunahme der Gewebe. Nachdem die Gewebe, deren Arginasegehalt bedeutend ist, in Anwesenheit von Ammoniak und Ornithin kein Uream bilden, nimmt *Edelbacher* an, daß Arginase auch in den Geschwülsten die Protamine abbaut, welche an Arginin sehr reich sind.

Die vorteilhafte Wirkung des Arginins auf die Entwicklung der Area vasculosa könnte mit jener vorher beschriebenen Feststellung in Zusammenhang sein, daß das Arginin im überlebenden Knochenmark die Blutbildung befördert (*Jeney*).

Für die Erklärung der auffallenden Wirkung des Valins fanden wir keinen Anhaltspunkt in den Angaben des bisherigen Schrifttums.

Die befördernde Wirkung des hämolysierten Blutes und des Globins steht scheinbar mit ihrem Protamingehalt in Zusammenhang. In den Leberauszügen dürften wir wahrscheinlich eine ähnliche Rolle wie die der mittels Alkohol nicht koagulierbaren Polypeptide zu suchen haben. Wie anzunehmen ist, spielt bei dem Aufbau dieser Polypeptide das Argininmolekül eine wichtige Rolle. Die Wirkung des die Stromabestandteile nicht enthaltenden homologen hämolysierten Blutes war nicht nur wegen der außerordentlichen Förderung der Entwicklung des Embryos am auffallendsten, sondern auch deswegen, weil auf diese Weise die Blutbildung schon für einfache Betrachtung erhöht schien. *Lightwood, Hawskley* und *Bailey* fanden die Stromasubstanz der roten Blutkörperchen für sich allein wirkungslos auf die Blutbildung der Kaninchen. Die blutbildende und die entwicklungsfördernde Wirkung der Leberauszüge auf das Adernsystem war ebenfalls festzustellen. Das Bilirubin wies keine dieser Wirkungen auf.

In den mit menschlichem Speichel durchgeführten Versuchen fiel einesteils das auf, daß der Speichel von gesunden Menschen in einem Teil der Fälle nicht nur die Entwicklung des Embryos, sondern auch die des Adernsystems und die Blutbildung beförderte, andernteils, daß der Speichel von Personen, die an *Biermerscher* Anämie litten, auf die Hühnerembryonen bemerkbar toxisch wirkte. Wie bekannt, wurde im Blute und im Liquor der an *Biermerscher* Anaemia leidenden Personen von *Macht* das Vorhandensein eines toxischen Stoffes festgestellt, welcher die Entwicklung der Wurzel und des Stengels des *Lupinus albus* verhindert. Von *Macht* wurde auch nachgewiesen, daß dieser phytotoxische Stoff auch in den Morgenmageninhalt der an *Biermerscher* Anämie Leidenden anwesend ist und die beobachtete Wirkung mit dem  $p_{\text{H}}$ -Wert des Mageninhalts nicht im Zusammenhang steht.

Weiters ist *Castles* Feststellung bekannt, nach welcher man die bei der Therapie der Anaemia perniciosa mit Erfolg angewendeten Leberauszüge mit aus gesunden tierischen Mägen hergestellten Extrakten ersetzen kann und wirkungsvoller Stoff auch dadurch zu gewinnen ist, daß man durch den Magensaft gesunder Menschen Fleisch verdauen läßt. Der auf diese Weise gewonnene Stoff ist nach ihm für die normale Blutbildung erforderlich und heilt die Anaemia perniciosa. Im Magen der an Anaemia perniciosa Leidenden fehlt der *Castlesche* Stoff, der „intrinsic-Faktor“ des normalen Magens. Die Leber ist wahrscheinlich nur die Sammelstelle dieses Stoffes. Deswegen wirken auch die Leberauszüge. Falls der *Castlesche* Faktor im Magen fehlt, ist bei Anaemia perniciosa der aus der Leber hergestellte Extrakt wirkungslos (*Ivy*). Wird bei Schweinen der Magen entfernt, so verschwindet nach einiger Zeit aus der Leber der antiperniziöse Faktor (*Bence*). Die antiperniziöse Wirkung der mit normalem Magensaft verdauten Leber wird erhöht (*Reimann*). Nach ausgedehnter Magenresektion tritt in einigen Jahren Anämie auf (*Deganella*). Nach *Castle* benötigt die Heilung der Anaemia perniciosa 2 Faktoren: Erstens den im gesunden Magen anwesenden endogenen („intrinsic“) Faktor, zweitens einen exogenen („extrinsic“) Faktor, der sich im Fleisch, Ei und Hefe befindet. Diesen letzteren Stoff brachten er und andere mit dem Vitamin B<sub>2</sub> in Beziehung.

Nach unseren vorliegenden Versuchen könnte man daran denken, daß der *Castlesche* sog. „extrinsic-Faktor“ auch mit dem Speichel in den Magen gelangen kann. Im Speichel können — wenn auch in geringer Menge — solche Stoffe anwesend sein, die sich im Magen in wirkungsvolle, antianämische, blutbildende Stoffe verwandeln. Zu ihrer Entstehung ist also auch die normale Tätigkeit des Magens erforderlich.

Nachdem wir auch die Wirkungsstoffe der Leberauszüge unter den Polypeptiden suchen, ist es nicht unwahrscheinlich, daß sich ähnliche Stoffe auch unter den Bestandteilen des Speichels befinden. *S. Delaunay* und *R. Jahiel* konnten in der Tat im Speichel gesunder Individuen

Polypeptide in meßbaren Mengen nachweisen. Zu der Bestimmung der Polypeptide wendeten sie das *van Slykesche* Verfahren an, welches, wie bekannt, darauf beruht, daß mittels Phosphorwolframsäure sowohl die Eiweiße wie die Polypeptide ausfällbar sind, während die Trichloressigsäure nur die Eiweiße ausfällt. Wenn wir mit den auf diese Weisen gewonnenen 2 Filtraten N-Bestimmungen ausführen, ergibt der zwischen den 2 Werten gefundene Unterschied die Polypeptidmenge. Mit diesen Verfahren wurde auch der Polypeptidgehalt des Blutserums und des Liquors festgestellt (*Fiessinger, Prunell und Manzini*). Bei gesunden Personen besteht nach *Manzini* keine, aber bei Graviden eine gut zu beobachtende Polypeptidämie (*Sannicrando*). Die Leber verhindert die Ansammlung der großmolekulären Polypeptide im Blute (*Fiessinger, M. Herbain, K. Lançon*). Nur in Fällen von schweren Leberleiden, bei Versuchstieren durch Thoriumoxyd verursachter Hepatitis und nach der Abbindung des Choledochus auftretenden Ikterusfällen steigt der Polypeptidgehalt des Blutes. Nach *Martens* gibt es Polypeptide, die durch die Leber selbst synthetisiert werden und diese erscheinen z. B. nach Peptonzufuhr ungefähr in 32 Stunden im Blute.

Den Klinikern ist es wohlbekannt, daß im Falle mangelhafter Lebertätigkeit und Verdauungsstörungen die Speichelsekretion sich ändert. Es wird mehr oder weniger Speichel erzeugt und ist auffallend, daß der Geschmack, besonders aber der des Morgenspeichels, sich bei vielen Leberleiden verändert, bitter wird. Andererseits wissen wir, was schon von *Emil Fischer* festgestellt wurde, daß die Polypeptide bitter schmecken, der größere Teil der Aminosäuren schmeckt süßlich, und nur einzelne haben bitterlichen Nachgeschmack. *Emerson, Charles, Helmer* prüften den Amylasegehalt des Speichels und fanden in Anämia perniciosa-Fällen seitens der Speicheldrüsen keine Hypofunktion. Den Klinikern ist es aber schon seit langem bekannt, daß u. U. schon Jahre vor der Erscheinung des auf die Anaemia perniciosa charakteristischen Bildes gegen Histamin refraktäre Achylia besteht und außerdem geht auch auf der Zunge eine eigenartige Veränderung vor sich, die wir unter den Namen *Huntersche Zunge* (*Glossitis ulcerosa*) kennen. *Schaumann* hält das brennende, scharfe Gefühl an der Zungenwurzel und im Rachen für ein frühes Symptom der Anaemia perniciosa. Daraus kann man auch schließen, daß in der Erzeugung des gemischten Speichels irgendeine Veränderung vor sich geht, die unserer Aufmerksamkeit bisher entging. Vielleicht könnte man es mit dieser Änderung in Zusammenhang bringen, daß der Speichel der an Anaemia perniciosa leidenden Personen auf den Hühnerembryo von toxischer Wirkung war. Bei Speichel gesunder Individuen konnten wir diese Wirkung nicht beobachten, vielmehr beeinflusste er die Entwicklung der Blastoderma in vorteilhafter Weise. Diese Frage zu lösen werden weitere Versuche und klinische Beobachtungen berufen sein.

### Zusammenfassung.

1. Hühnereier wurden durch 40 Stunden bebrütet, dann wurde unter die Kalkhülle mit Injektionsnadel und Spritze je 1 Tropfen des Versuchsmaterials eingebracht. Die Eier wurden sofort mit der Injektionsstelle aufwärts gedreht, so daß sich das eingespritzte Material unmittelbar oberhalb der Blastoderma lagerte. Verschuß der Öffnung mit Paraffin. Weitere Bebrütung der Eier durch 46 Stunden. Die 86stündigen Embryonen wurden in nativem Zustand mit dem Stereomikroskop beobachtet (Größe, Entwicklung des Embryos und der Area vasculosa, Farbe und Menge des Blutes usw.). Konservierung der abgetrennten Blastoderma in Jores-Flüssigkeit. Ein Teil der Präparate nach Fixation mit Hämalaun oder nach *Giemsa* gefärbt.

2. Die Entwicklung des Embryos wurde befördert durch: Arginin, Valin, Leucin, homologes Hämoglobin, Globin-Lösung, Leberauszüge, bei einem Teil der Fälle auch durch Speichel von gesunden, nicht rauchenden Menschen.

3. Die Entwicklung des Embryo wurde gehemmt durch: Glykokoll, Cystein, Cystin, Isoleucin, d. l. Serin, Cadaverin, Bilirubin und Speichel an *Biermerscher* Anämie leidender Menschen.

4. Die Embryonen gingen zugrunde nach Einbringen von: Ornithin, Kreatinin, Tryptophan und in einem Teil der Fälle auf die Wirkung von Speichel an *Biermerschen* Anämie leidenden Menschen.

5. Die Bildung von Blutinseln und Blutgefäßen wurde befördert durch: homologes Hämoglobin, Globin-Lösung, Leberauszüge, Arginin, Valin, bei einem Teil der Fälle auch durch Speichel von gesunden Menschen.

6. Dieses Verfahren kann zum Studium der blutbildenden Reize angewendet werden.

### Schrifttum.

- Annan, Ernő u. Gözsy*: Ber. Physiol. **74**, 183 (1933). — *Delahunay, S. u. Richard Jahiel*: C. r. Soc. Biol. Paris **118**, Nr 14, 1418 (1935). — *Edlbacher u. Koller*: Hoppe-Seylers Z. **227**, 99 (1934). — *Edlbacher u. Merz*: Hoppe-Seylers Z. **171**, 253 (1927). — *Emerson, jr., P. Charles u. O. M. Helmer*: J. Labor. a. clin. Med. **19**, 504—506 (1934). — *Fiessinger, Noël, M. Herbain u. R. Lançon*: Arch. internat. Pharmacodynamie **43**, 216—236 (1932). — *Hoff, F.*: Münch. med. Wschr. **1935** I. — *Jeney, A. v.*: Virchows Arch. **290**, H. 2/3 (1933); **293**, H. 4, 665. — *Lightwood, Rag., J. C. Hawksley u. Mrs. M. Bailly*: J. of Path. **39**, 421—428 (1934). — *Macht, D.*: Amer. J. Physiol. **90**, 440—441 (1929); **93**, 670 (1933). — *Macht, D. u. M. Paulson*: Amer. J. Physiol. **97**, 542—543. — *Manzini, C.*: Bull. Acad. Med. Roma **57**, 439—447 (1931). — *Martens, R.*: Bull. Soc. Chim. biol. Paris **13**, 1187—1198 (1931). — *Sabin, Fl.*: Contrib. to Embryol. **14**, Nr 65—71, (1922). — *Sannicrando, G.*: Fiziol. e Med. **4**, 501—526 (1932).