

(Aus dem Pathologischen Institut der Friedrich-Schiller-Universität Jena
[Leiter: Prof. Dr. Werner Gerlach; Stellvertretender Leiter: Doz. Dr. E. Schairer].)

Untersuchungen über den Vitamin-A-Stoffwechsel des Auges

von Laboratoriumstieren mit Hilfe des Lumineszenzmikroskops.

Von

E. Schairer und K. Patzelt.

(Eingegangen am 19. September 1940.)

Das Vorkommen des antixerophthalmischen Vitamins im Auge wurde zuerst von *Holm*³ im biologischen Versuch nachgewiesen; er zeigte, daß Xerophthalmie bei Ratten durch Fütterung von frischen Netzhäuten von Kälbern geheilt werden kann. Ein ähnliches Ergebnis hatten auch *Smith*, *Yodkin*, *Kriss* und *Zimmermann*⁹ mit getrockneten Netzhäuten.

Der chemische bzw. spektralanalytische Nachweis des Vitamins A in der Netzhaut von Fröschen, Schafen, Schweinen und Rindern gelang zuerst *Wald*^{12a}, der gleichzeitig ebenfalls den Nachweis durch Fütterungsversuche erbrachte. *Wald* hatte zunächst die Netzhaut zusammen mit dem Pigmentepithel und der Chorioidea untersucht. Schon kurz darnach wurde von *v. Euler* und *Adler*¹ gezeigt, daß die Hauptmenge des Vitamins A, allerdings in Form von Carotin, sich beim Rinde im Pigmentepithel findet (240 γ im Pigmentepithel gegenüber 95 γ in der Netzhaut). *Wald* konnte die gleichen Verhältnisse beim Frosch beobachten. Er fand im Froschauge, wenn er Pigmentepithel und Chorioidea zusammen untersuchte, 9 γ Vitamin A, von dem mindestens 80% im Pigmentepithel allein vorhanden waren gegen 0,8—2,3 γ in der isolierten Netzhaut. *Karrer*⁶ gibt als Werte für die Retina von Säugetieren 22 γ Vitamin A auf das Gramm Netzhaut, beim Frosch 400 γ pro Gramm für die Netzhaut, 2000 γ pro Gramm für die Pigmentschicht.

Weiterhin stellte *Wald*^{12b} fest, daß dunkeladaptierte Netzhäute nur Spuren von Vitamin A enthalten, dagegen reichlich Sehpurpur, während umgekehrt dem Licht ausgesetzte Netzhäute arm an Sehpurpur und reich an Vitamin A sind. *Wald*^{12c-e} nahm an, und versuchte diese Annahme durch zahlreiche Untersuchungen zu unterbauen, daß das Vitamin A ein Bestandteil des Sehpurpurs sei. Beim Zerfall des Sehpurpurs im Licht über Sehgelb zu Sehweiß soll das Vitamin A frei und deshalb nachweisbar werden.

In der letzten Zeit ist die Carotinoidnatur des Sehpurpurs jedoch von *Krause* und *Sidwell*⁷ auf Grund ihrer Versuchsergebnisse bestritten

worden. Auch *v. Studnitz*¹⁰ kann in einer zusammenfassenden Darstellung des ganzen Problems sich der Auffassung *Walds* nicht anschließen, da zu viele Unstimmigkeiten zwischen der Theorie und den tatsächlichen Beobachtungen sich ergeben.

Jedenfalls aber wird von allen Untersuchern die Tatsache anerkannt, daß Vitamin A in Netzhaut und Pigmentepithel vorkommt und daß es eine bedeutsame Rolle beim Sehakt, und zwar besonders bei der Dunkeladaptation spielen muß. Vielfache klinische und experimentelle Erfahrungen beweisen, daß Mangel an Vitamin A zu einer Verlängerung der Dunkeladaptationszeit, ja bis zu hochgradiger Nachtblindheit führen, und daß diese durch Gaben von Vitamin A oder Carotin schnell beseitigt werden kann.

Aber nicht nur durch den biologischen Versuch, durch die chemische und klinische Analyse, sondern auch durch die histologische Untersuchung gelang es, das Vitamin A im Auge nachzuweisen. *Jancsó* und *Jancsó*⁵ fanden bei Albinoratten im Pigmentepithel helladaptierter Tiere reichlich Vitamin A. Sie gingen dabei so vor, daß sie den hinteren Teil des Bulbus der Tiere herauspräparierten und im durchfallenden UV-Licht im Lumineszenzmikroskop betrachteten. Nach maximaler Helladaptation der Tiere (1 Stunde Sonnenlicht) sahen sie ein Mosaik regelmäßiger, sechseckiger Felder, die den Zellen des Pigmentepithels entsprachen und in deren Randteilen zahlreiche feine Tröpfchen hellgrünlichweiß leuchteten. Während der Belichtung durch das UV-Licht verblaßte die Lumineszenz zusehends und erlosch nach 1—4 Minuten völlig. Bei Tieren, deren Augen völlig dunkeladaptiert waren (3 Stunden Dunkelkammer) war keine Lumineszenz wahrzunehmen.

Aus der beschriebenen „Delumination“, die nach *Querner*⁸ für Vitamin A charakteristisch ist, ferner aus der Tatsache, daß das entsprechende Leuchtbild in der Leber und Nebenniere der Ratten durch Carotin- und Vitamin-A-Fütterung zu großer Intensität gesteigert werden konnte, ferner auch aus der Abhängigkeit des Leuchtbildes vom Adaptionszustand schlossen *Jancsó* und *Jancsó*⁵, daß der von ihnen beobachtete Leuchtstoff mit Vitamin A identisch sei.

Eigene Untersuchungen.

*Wir*¹³ haben uns in einer früheren Arbeit mit dem lumineszenzmikroskopischen Nachweis des Vitamins A in menschlichen und tierischen Organen befaßt. Wir konnten dabei die Angabe *Querners*⁸ bestätigen, daß sein „Leuchtstoff“, der durch ganz bestimmte Eigenschaften, eine grüngelbe Lumineszenz, starke Empfindlichkeit gegen UV-Licht u. a. m., ausgezeichnet ist, einer Form des Vitamins A entspricht. Jedoch ergab sich aus den gleichzeitigen histologischen und chemischen Untersuchungen der Organe, daß das Vitamin A in ihnen auch in nicht lumineszierender Form vorkommen kann, da in histologisch leuchtstofffreien Organen

chemisch Vitamin A nachgewiesen werden konnte. Die Versuche von *Jancsó* und *Jancsó*⁵ fanden deshalb unsere besondere Aufmerksamkeit, weil hier am Auge durch die Einwirkung des Sonnenlichts die sichtbare, lumineszierende Form des Vitamins entsteht. So beschlossen wir, die Versuche nachzuprüfen und zu erweitern, um uns ein möglichst vollständiges Bild über die am Rattenauge bei der Belichtung ablaufenden Vorgänge machen zu können. Zu diesem Zwecke vervollständigen wir die Untersuchungsmethodik, verfolgten möglichst weitgehend die zeitlichen Abläufe und zogen endlich auch dunkelpigmentierte Ratten sowie Meerschweinchen und Kaninchen zu unseren Untersuchungen heran.

Methodik.

Die Untersuchung jedes einzelnen Auges wurde von uns so durchgeführt, daß das Auge lebensfrisch entnommen, auf dem Gefriertisch des Gefriermikrotoms festgefroren und zunächst so halbiert wurde, daß jeder Teil auch eine Hälfte der Hornhaut und Linse enthielt. Hierbei wurde die Netzhaut ebenfalls in 2 ungefähr gleiche Hälften unterteilt. In der oberen, abgeschnittenen Hälfte des Auges wurde sofort die Netzhaut herausgelöst und ihre Farbe beurteilt. Dann lag in der oberen Hälfte des Augenbeckens das Pigmentepithel frei. Dieses wurde ebenso wie die herausgenommene Netzhaut im Zeißschen Lumineszenzmikroskop bei Auflicht betrachtet.

Von der unteren Hälfte des Auges wurden zunächst einmal einige möglichst vollständige Gefrierschnitte abgeschnitten und in Wasser verbracht. Der Rest wurde in gefrorenem Zustande bei Auflicht im Lumineszenzmikroskop betrachtet, wodurch man einen vollständigen Überblick über den Augapfel bekam. Zuletzt kam noch die Untersuchung des mit Glycerin eingedeckten Gefrierschnittes im durchfallenden UV-Licht.

Durch diese mehrfache Betrachtungsweise gelang es so gut wie in jedem Falle, uns ein sicheres Urteil über die Menge und die Verteilung der lumineszierenden Stoffe in den verschiedenen Teilen des Auges zu bilden und gleichzeitig die Befunde immer wieder zu kontrollieren, so daß Beobachtungsfehler weitgehend ausgeschaltet werden konnten, die sonst bei der Beobachtung so zarter Gebilde leicht vorkommen könnten. Die Beobachtung des Durchschnittes des gefrorenen Auges verschaffte einen guten Überblick und ließ vor allem auch einen Vergleich der mittleren Teile der Netzhaut und des Pigmentepithels mit den Randteilen (*Ora serrata*) zu, was sich als nicht unwichtig herausstellte.

Endlich wurden bei jedem Tier auch Gefrierschnitte der unfixierten Leber und Nebenniere angefertigt, um den Gehalt an histologisch nachweisbarem Vitamin A (Leuchtstoff) in diesen Organen erfassen zu können.

Versuche.

A. Verhalten des Leuchtstoffs im dunkeladaptierten und belichteten Auge der lebenden Albinoratte.

Die erste Versuchsreihe umfaßte insgesamt 13 Albinoratten von etwa 150—220 g Gewicht. 8 Tiere wurden an verschiedenen Tagen (1.—24. 4. 40) in einem Drahtkäfig 1—8 Stunden lang der Sonne bzw. dem diffusen Tageslicht ausgesetzt, durch Nackenschlag getötet und sofort untersucht. 5 Tiere, die jeweils aus dem gleichen Stall stammten und die gleiche, gewöhnliche Mischkost bekamen, wurden als Kontrollen an den gleichen Tagen 8 Stunden lang in einen völlig abgedunkelten Käfig gesetzt und dann bei Rotlicht in der Dunkelkammer getötet. Die Bearbeitung der Augen wurde soweit als möglich ebenfalls im abgedunkelten Raum fortgesetzt.

In Tabelle 1 sind die Versuchsergebnisse zusammengestellt. In der ersten Spalte ist die Versuchsnummer angegeben, in der zweiten die Zeit der Belichtung bzw. Verdunkelung, deren Einzelheiten aus der 3. Spalte zu entnehmen sind. Aus der 4. Spalte ergibt sich die Intensität des Leuchtstoffes im Auge (Vitamin A). 0 bedeutet Fehlen, I geringe Intensität mit nur feinen, bei Belichtung mit UV-Licht schnell verschwindenden Körnchen, während II gröbere, bei Belichtung nur langsam verschwindende Körnchen bedeutet. Aus Spalte 5 und 6 ersieht man die Intensität der Leuchtstoffablagerung in der Leber und der Nebenniere, wobei 0 Fehlen des Leuchtstoffes, I die schwächste, IV die stärkste vorkommende Intensität bedeutet.

Tabelle 1.

1 Versuchs- Nr.	2 Zeit	3 Art der Einwirkung	4 Leuchtstoffgehalt		
			Pigment- epithel	Leber	Nebenniere
19	1 Stunde	hell, bedeckter Himmel	II	II	I—II
39	1 Stunde	Sonne	II	II	0—I
40	2 Stunden	Sonne	0—I	0—I	II
41	2 Stunden	Sonne	I—II	II	II
42	6 Stunden	teilweise Sonne	0	II—III	I
8	6 Stunden	Sonne	0	I—II	II—III
10	8 Stunden	hell, bedeckt	II	I	II
14	8 Stunden	hell, bedeckt	I	II—III	III
9	8 Stunden	Dunkelheit	0	I—II	II—III
11	8 Stunden	Dunkelheit	0	I	II
16	8 Stunden	Dunkelheit	0—I	II—III	III
45	8 Stunden	Dunkelheit	0	II	II
46	8 Stunden	Dunkelheit	0	I	II

Die Wiedergabe eines Versuchsprotokolls mag den Gang der Untersuchung noch erläutern:

Versuch 39 am 23. 4. 40. Albinoratte, weiblich, 180 g schwer. Normale Ernährung. Um 10 Uhr im Drahtkäfig in die Sonne gebracht, um 11 Uhr durch Nackenschlag getötet. Warme Außentemperatur. Sektion: Gravidität, 4 Früchte.

Auge. Netzhaut frei von Leuchtstoff. Bei Aufsicht auf das Pigmentepithel sieht man ziemlich zahlreiche Leuchtstoffkörnchen, die an den Rändern von

sechseckigen Feldern angeordnet sind. Intensität II. Die Betrachtung des halbierten Auges im Auflicht ergibt ein leuchtendes Pigmentepithel von grüngelber Farbe. Am intensivsten leuchtet ein schmaler, äußerer Streifen (eigentliches Pigmentepithel, s. unten). Nach Belichtung mit UV-Licht verliert sich der grüne Ton und es bleibt ein gelber Streifen übrig. An der Ora serrata ein rein grüner, kugeligter Fleck von starker Leuchtkraft. Im Gefrierschnitt sieht man im Pigmentepithel reichlich grüngelb leuchtende Körnchen, deren Farbe bei der Belichtung sich in stumpfes Hellgelb oder Orange gelb verwandelt.

Leber: Ziemlich reichlich Leuchtstoff in den Sternzellen und fein verteilt auch in den Leberzellen (Intensität II).

Nebenniere: Die Rinde leuchtet diffus mattgrün. Keine körnchenförmigen Ablagerungen von Leuchtstoff (Intensität I).

Tabelle 1 bestätigt die Ergebnisse von *Jancsó* und *Jancsó*⁵ im wesentlichen. Bei den 5 im Dunkeln gehaltenen Tieren ließen sich nur in einem Fall Spuren von Leuchtstoff im Pigmentepithel nachweisen. Dagegen enthielt das Pigmentepithel der Tiere, die 1—8 Stunden dem Tageslicht bei bedecktem Himmel ausgesetzt waren, ebenso wie das der Tiere, die kürzere Zeit (1—2 Stunden) im Sonnenlicht gestanden hatten, reichlich Leuchtstoff. Allerdings fand sich im Pigmentepithel der Tiere, die längere Zeit (2—6 Stunden) im prallen Sonnenlicht gesessen hatten, nur wenig (Versuch 40) oder gar kein Leuchtstoff (Versuch 42 und 8), trotzdem die Tiere aus demselben Stall stammten und die gleiche Nahrung erhalten hatten wie die übrigen, und trotzdem die inneren Organe reichlich Leuchtstoff enthielten. Es ist denkbar, daß bei diesen Tieren allein durch die langdauernde und intensive Einwirkung des Sonnenlichts der lichtempfindliche Leuchtstoff wieder zerstört wurde.

Wir stellten also in den besprochenen Versuchen fest, daß nach 1stündiger Belichtung im Pigmentepithel weißer Ratten ein im UV-Licht aufleuchtender Stoff zu finden ist, der mit größter Wahrscheinlichkeit dem Vitamin A entspricht. Es erschien uns wichtig, zu untersuchen, nach welcher Belichtungszeit die ersten Spuren dieses Leuchtstoffs auftreten. Weiterhin konnte man die bisherigen Versuche deshalb als noch lückenhaft ansehen, als nicht von vornherein sicher war, daß alle Augen und Tiere gleich reagierten. Es wäre denkbar gewesen, daß das Auftreten von Leuchtstoff im Pigmentepithel noch von ganz anderen, unbekannten Bedingungen abhängig gewesen wäre. Wenn auch dieser Einwand bei der nicht ganz kleinen Zahl untersuchter Tiere nicht gerade zugkräftig erscheint, so unternahmen wir es doch, ihn von vornherein dadurch zu entkräften, daß wir bei unseren weiteren Versuchen die beiden Augen ein- und desselben Tieres vor und nach Belichtung untersuchten. Dabei wird allerdings vorausgesetzt, daß die beiden Augen desselben Tieres sich gleichartig verhalten, was wir auch in vielen vorausgehenden und späteren Versuchen bestätigen konnten.

Die Ergebnisse unserer 2. Versuchsreihe sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Die Art der Durchführung der Versuche soll durch die Wiedergabe des Protokolls des ersten Versuchs (Nr. 75) erläutert werden:

Tabelle 2.

Versuchs-Nr.	Farbe	Geschlecht	Gewicht in g	Kost	Erstes Auge		Zweites Auge		Leuchtstoffgehalt	
					Behandlung	Leuchtstoff	Behandlung	Leuchtstoff	Leber	Nebenniere
75	weiß	♀	150	normal	dunkel seit 16 Stunden	Spuren	20 Min. diffuses Tageslicht. Keine Narkose	III	I—II	II
77	weiß	♀	130	normal	seit Tagen in Dunkelheit	0	5 Min. diffuses Tageslicht. Keine Narkose	I—II	I	I
78	weiß	♀	155	normal	seit Tagen in Dunkelheit	0	1 Min. diffuses Tageslicht. Keine Narkose	0	I—II	II
79	weiß	♀	145	normal	seit Tagen in Dunkelheit	0	5 Min. diffuses Tageslicht. In Narkose	II	II	II—I
81	weiß	♀	157	normal	seit Tagen in Dunkelheit	0	1 Min. diffuses Tageslicht. In Narkose	I	I—II	II
80	weiß	♀	185	normal	seit Tagen in Dunkelheit	0	lebendes Tier 2 weitere Stunden Dunkelheit	Spuren	II	II

Versuch-Nr. 75 am 30. 7. 1940. Weiße Ratte, weiblich, 150 g schwer. Normale Stallkost. Äußerlich ohne Besonderheiten. Am 29. 7. abends völlige Verdunkelung (schwarze Tücher um den Käfig). Am 30. 7. 11 Uhr wird möglichst weitgehend im Dunkeln ein Auge in Äthernarkose entfernt, die Augenhöhle durch kleine Tupfer verschlossen. Blutverlust gering. Nach Erwachen aus der Narkose wird das Tier 20 Minuten lang dem diffusen Tageslicht ausgesetzt und anschließend durch Nackenschlag getötet. Sektion ergibt keine Besonderheiten.

1. Auge (Dunkelaug): Netzhaut makroskopisch dunkelrosa. Frei von Leuchtstoff. Bei Aufsicht auf das Pigmentepithel im UV-Licht sieht man nur braune Felderung. Ganz geringe Spuren von Leuchtstoff in feinsten, sofort verschwindenden Körnchen.

Durchschnitt durch das gefrorene Auge (Aufsicht im UV-Licht): Außen ist die wie immer blau lumineszierende Sklera und Chorioidea zu sehen. Anschließend folgt nach innen als schmale Schicht das leuchtend gelb lumineszierende Pigmentepithel, das bis an die Ora serrata zu verfolgen ist. Weiter nach innen folgt eine breitere sattbraunrot lumineszierende Schicht, die der Sinneszellenschicht (Stäbchen und Zapfen) entspricht. Endlich folgen nach innen die Leitschichten der Netzhaut, die nur eine geringe grünlichblaue Lumineszenz zeigen. Ora serrata frei von Leuchtstoff.

Im Gefrierschnitt ist das Pigmentepithel bei durchfallendem UV-Licht gelbbraun. Bei Belichtung bläut die Farbe etwas ab. Hier und da finden sich einzelne feinste, grünliche, schnell verblassende Körnchen.

2. Auge (Hellaug): Netzhaut makroskopisch grauweiß, enthält mikroskopisch keinen Leuchtstoff. Bei Aufsicht auf das Pigmentepithel sieht man sehr reichlich Leuchtstoff in feinen bis etwas gröberen Körnchen, die an den Kanten von sechseckigen Feldern angeordnet sind. Bei längerer Belichtung schwindet der Leuchtstoff und es bleibt nur eine braune Facettierung angedeutet.

Im Durchschnitt durch das gefrorene Auge ist im Gegensatz zum 1. Auge das Pigmentepithel leuchtend grün. Bei längerer Belichtung geht die Farbe in ein stumpfes Gelb über. Die Sinneszellenschicht zeigt ebenfalls eine grüne, jedoch

nicht so stark leuchtende Farbe, die bei Belichtung zu einem stumpfen, gelbbraunen Ton abbläßt. Im Gefrierschnitt ist das Pigmentepithel ebenfalls leuchtend grün (feine und gröbere Tröpfchen). Bei Belichtung ziemlich schnelles Abblässen zu einem stumpfen, gelbroten Ton.

Leber: Leuchtstoff in den Sternzellen (Intensität I—II).

Nebenniere: In der ganzen Rinde verteilter Leuchtstoff (Intensität II).

Dieser erste Versuch bewies das Auftreten von Leuchtstoff im Pigmentepithel des Auges der Albinoratte schon nach einer Belichtung von nur 20 Minuten. Entsprechend wurde Versuch Nr. 77 mit einer Belichtungszeit von 5 Minuten, Versuch Nr. 78 mit einer solchen von nur 1 Minute durchgeführt. Während in Versuch 77 deutlich im Pigmentepithel des belichteten Auges Leuchtstoff nachzuweisen war, war im Versuch 78 ein Unterschied der beiden Augen nicht zu erkennen, ebensowenig wie im Versuch 80. Dieser war angesetzt worden, um unsere Ergebnisse zu kontrollieren. Das erste, dunkeladaptierte Auge wurde in Narkose entfernt, das zweite 2 Stunden später, nachdem das Tier bis dahin weiter im Dunkel gegessen hatte. Narkose, Wundschmerz usw. konnte also das Erscheinen des Leuchtstoffs nicht bewirken.

In den Versuchen 75, 77 und 78 war das zweite Auge erst nach Erwachen aus der Narkose belichtet worden. Während der Belichtung schlossen diese Tiere vielfach die Lider und wandten sich vom Licht ab. Deshalb wurde in zwei weiteren Versuchen (79 und 81) das erste Auge in Narkose entfernt, die Narkose fortgesetzt und sofort das zweite Auge, das nun weit offen gehalten wurde, 5 bzw. 1 Minute dem Tageslicht ausgesetzt. In beiden Versuchen war im belichteten Auge deutlich Leuchtstoff im Pigmentepithel wahrzunehmen.

In sämtlichen Belichtungsversuchen der zweiten Reihe war aufgefallen, daß bei der makroskopischen Betrachtung die Netzhaut in den dunkeladaptierten Augen häufig rot, in den belichteten je nach Zeitdauer der Lichteinwirkung zartrosa bis grauweiß erschien. Wir beobachteten in den dunkeladaptierten Augen immer eine sattbraunrote Lumineszenz der Sinneszellenschicht, während schon nach kurzer Belichtung diese Farbe in ein mattes Braungelb überging und schließlich völlig verschwand. An ihrer Stelle trat dann das Grün des Leuchtstoffes, gewöhnlich in minderer Leuchtkraft als im Pigmentepithel, auf.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß die beobachtete sattbraunrote Lumineszenz von dem Schpurpur herrührt, der in der Sinneszellenschicht gespeichert ist. Bei Belichtung verschwindet dieser. Gleichzeitig tritt im Pigmentepithel unser Leuchtstoff in großer Intensität und Tröpfchenform auf, daneben in geringerer Intensität und in mehr diffuser Verteilung auch in der Sinneszellenschicht selbst.

Wichtig erschien uns in den vorliegenden Versuchen vor allem die Feststellung, daß der Leuchtstoff so schnell entsteht, daß er schon nach 1 Minute Belichtung deutlich nachzuweisen ist. Dieser Befund

ließe sich ohne weiteres mit der Theorie *Walds* in Einklang bringen, daß das Vitamin A unmittelbar durch Zerfall des Sehpurpurs bzw. des Sehgelbs entstehe. Nur müßte man annehmen, daß dabei ein sehr schneller Stofftransport von der Sinneszellenschicht in das Pigmentepithel statthät. Aber es war auch denkbar, daß der Zerfall des Sehpurpurs und das Auftreten des Vitamins A zwei verschiedenen Prozessen entsprechen, die nebeneinander herlaufen.

B. Verhalten des Sehpurpurs und des Leuchtstoffes bei Belichtung des Auges der toten Albinoratte.

Eine weitere Versuchsreihe sollte zeigen, ob auch am toten Auge eine Parallelität zwischen Verschwinden des Sehpurpurs und Auftreten des Leuchtstoffes besteht. In Tabelle 3 sind die Ergebnisse zusammengefaßt.

In Versuch 104 und 96 wurde je eine normale weiße Ratte, die seit Tagen im Dunkeln gehalten war, möglichst im Dunkeln getötet und ein Auge sofort untersucht, wobei sich das übliche, oben beschriebene Bild ergab. Die Farbe der Netzhaut war dunkelrosa, Leuchtstoff im Pigmentepithel fand sich nicht oder höchstens in Spuren. Das zweite Auge wurde im Tier belassen und sofort dem diffusen Tageslicht ausgesetzt, bei Versuch 104 10 Minuten lang, bei Versuch 96 40 Minuten lang. In beiden Fällen war die Netzhaut gebleicht, weiß und deutlich Leuchtstoff im Pigmentepithel nachzuweisen; dabei war nach 40 Minuten Belichtung deutlich mehr Leuchtstoff vorhanden als nach 10 Minuten. Es ergab sich also bei der Belichtung des Auges im toten Tier dieselbe Koppelung der beiden Reaktionen wie im lebenden.

In 3 weiteren Versuchen (103, 101, 76) wurden die dunkeladaptierten Tiere ebenfalls im Dunkeln getötet, das erste Auge sofort untersucht und die üblichen Befunde dabei erhoben. Das zweite Auge wurde nun aber nicht im Tiere belassen, sondern aus der Augenhöhle entfernt und auf einem Objektträger isoliert dem diffusen Tageslicht 10, 15 und 45 Minuten lang ausgesetzt. Das Ergebnis war insofern überraschend, als zwar in allen Fällen eine völlige Bleichung der Netzhaut eingetreten, aber schon in den beiden Versuchen mit kürzerer Belichtungszeit nur ganz wenig Leuchtstoff im Pigmentepithel nachzuweisen war. Im Versuch 76 waren sogar nicht einmal Spuren des Leuchtstoffes aufzufinden, die doch im dunkeladaptierten Auge desselben Tieres noch zu erkennen gewesen waren.

Diese 3 Versuche zeigen, daß die Bleichung des Sehpurpurs und das Auftreten des Leuchtstoffes nicht immer parallel gehen; jedenfalls besteht keine völlige Parallelität in quantitativer Hinsicht, wenn man mit den vorhergehenden Versuchen vergleicht. Man gewinnt vielmehr den Eindruck, als ob ein Sichtbarwerden des Leuchtstoffes im Gegensatz zur Bleichung des Sehpurpurs an irgendeinen Vorgang gebunden sei,

Tabelle 3.

Versuchs-Nr.	Geschlecht	Gewicht in g	Erstes Auge			Zweites Auge			Leuchtstoffgehalt	
			Behandlung	Farbe der Netzhaut	Leuchtstoff	Behandlung	Farbe der Netzhaut	Leuchtstoff	Leber	Nebenniere
104	♀	240	seit 2 Tagen im Dunkel	dunkel-rosa	Spuren	10 Min. im Tier belassen. Diffuses Tageslicht	weiß	I	I—II	I—II
96	♂	150	seit Tagen in Dunkelheit	dunkel-rosa	0	40 Min. im Tier belassen. Diffuses Tageslicht	weiß	II	I	II
103	♀	220	seit 2 Tagen im Dunkel	dunkel-rosa	Spuren	10 Min. auf Objektträger dem diffusen Tageslicht ausgesetzt	weiß	0—I	0—I	I
101	♀	170	seit 2 Tagen im Dunkel	dunkel-rosa	Spuren	15 Min. auf Objektträger dem diffusen Tageslicht ausgesetzt	weiß	0—I	I—II	II
76	♀	150	seit 16 Stunden im Dunkel	—	Spuren	45 Min. auf Objektträger dem diffusen Tageslicht ausgesetzt	—	0	I	I—II
102	♀	185	seit 2 Tagen im Dunkel	hell-rosa	Spuren	Auge isoliert, in Augenhöhle zurückgelegt. 6 Stunden dem diffusen Tageslicht ausgesetzt	weiß	0	II	II
105	♂	150	seit 1 Tag im Dunkel	dunkel-rosa	0	Auge 2 Stunden im Tier belassen. Dann 10 Min. dem diffusen Tageslicht ausgesetzt	weiß	0	III	II
108	♀	160	seit 3 Tagen im Dunkel	dunkel-rosa	Spuren	Auge isoliert in Augenhöhle zurückgelegt, 3 Stunden im Dunkeln. Dann 10 Min. diffusen Tageslicht ausgesetzt	hell-orange	Spuren	I—II	I—II
106	♀	150	seit 1 Tag im Dunkel	dunkel-rosa	0	2 Stunden im Tier im Dunkeln belassen	dunkel-rosa	0	I	II—III
109	♀	180	seit 3 Tagen im Dunkel	dunkel-rosa	0	3 Stunden im Tier im Dunkeln belassen	dunkel-rosa	0	I—II	II—III

der im isolierten Auge eher erlischt als beim im Tier verbliebenen Auge. Im Versuch 76 mag der in den ersten Minuten gebildete spärliche Leuchtstoff infolge der Einwirkung des Lichts wieder geschwunden sein, ähnlich wie bei den geblendeten Tieren unserer ersten Versuchsreihe.

Unsere Auffassung, daß die Bildung des Leuchtstoffes an einen besonderen Vorgang gebunden ist, wurde durch 2 weitere Versuche bestätigt (Versuch 105 und 108). Dabei wurden 2 normale, dunkeladaptierte Tiere getötet und das erste Auge sofort untersucht und der übliche Befund erhoben. Das zweite Auge wurde im Tier belassen und dieses noch 2 bzw. 3 Stunden der Dunkelheit ausgesetzt. Anschließend wurde das Auge 10 bzw. 15 Minuten belichtet. Trotz völliger Bleichung des Sehpurpurs war in Versuch 105 überhaupt kein Leuchtstoff, in Versuch 108 nur Spuren, die geringer waren als im Vergleichsauge, nachzuweisen.

Versuch 106 und 109, in denen ganz entsprechend wie in den vorhergehenden Versuchen verfahren wurde, nur daß das zweite Auge nicht belichtet wurde, beweisen, daß bei Verbleiben des toten Auges im Dunkeln weder eine Bleichung des Sehpurpurs auftritt noch Leuchtstoff entsteht.

C. Verhalten des Leuchtstoffes während der Dunkeladaptation des Auges der Albinoratte.

Nachdem wir die Vorgänge bei der Belichtung des dunkeladaptierten Auges der Albinoratte betrachtet hatten, gingen wir an die Untersuchung der Verhältnisse bei der Dunkeladaptation. Tabelle 4 gibt die Versuchsergebnisse wieder.

In Versuch 86 war das Tier, das aus dem ziemlich dunklen Stall kam, 1 Stunde lang in die Dunkelkammer gesetzt, anschließend 5 Minuten lang dem hellen Sonnenlicht ausgesetzt worden. Darauf wurde ein Auge entfernt, in dem sehr reichlich Leuchtstoff gefunden wurde. Das Tier wurde unmittelbar im Anschluß an die Entfernung des ersten Auges ins Dunkle zurückgebracht und nach 12 Minuten getötet. Der

Tabelle 4.

Versuchs-Nr.	Geschlecht	Gewicht in g	Erstes Auge			Zweites Auge		Leuchtstoffgehalt	
			Behandlung	Farbe der Netzhaut	Leuchtstoff	Behandlung	Leuchtstoff	Leber	Nebenniere
86	♂	155	1 Stunde dunkel, 5 Min. ins Sonnenlicht	—	II—III	wie Auge 1, dann 12 Min. im Dunkeln	II—III	I—II	II
85	♂	145	aus dem Stall 5 Min. ins Sonnenlicht	—	II	wie Auge 1, dann 67 Min. im Dunkeln	I—II	II—III	II
87	♂	150	30 Min. helles Licht, dann 5½ Stunden im Dunkeln	hell-rosa	Spuren	—	—	—	—
88	♂	150	5 Min. helles Licht, dann 7 Stunden 15 Min. im Dunkeln	dunkel-rosa	Spuren	—	—	—	—

Befund des 2. Auges entsprach durchaus dem des ersten; nur zeigte die Sinneszellenschicht des 2. Auges einen bräunlichen Farbton während die des ersten mattgrün war.

Versuch 85 entsprach ganz Versuch 86; nur wurde das 2. Auge nicht 12, sondern 67 Minuten verdunkelt. Hier war im Dunkelauge eine gewisse Abnahme des Leuchtstoffes sowie eine Braunfärbung der Sinneszellenschicht im Gegensatz zur Grünfärbung im 1. Auge nachzuweisen. Makroskopisch war die Netzhaut noch weiß, wie auch mikroskopisch noch nicht die sattbraunrote Färbung der Sinneszellenschicht zu erkennen war, die beim dunkeladaptierten Auge entsteht.

In den Versuchen 87 und 88 wurden die vorher dunkeladaptierten Tiere 30 bzw. 5 Minuten dem hellen, diffusen Tageslicht ausgesetzt. Dann kamen sie wieder in die Dunkelheit und wurden nach $5\frac{1}{2}$ bzw. $7\frac{1}{4}$ Stunden im Dunkeln getötet. Bei ihnen fanden sich nur noch Spuren von Leuchtstoff im Pigmentepithel; die Netzhaut war makroskopisch hell- bzw. dunkelrosa und auch im Lumineszenzmikroskop war wieder die sattbraunrote Lumineszenz des Sehpurpurs in der Sinneszellenschicht zu sehen.

Fassen wir zusammen, so ergibt sich wiederum am lebenden Auge eine Parallelität zwischen Verschwinden des Leuchtstoffes aus dem Pigmentepithel auf der einen Seite und Auftreten des Sehpurpurs in der Sinneszellenschicht auf der anderen. Nur zeitlich verläuft dieser Prozeß, wie bekannt, viel langsamer als der umgekehrte Vorgang. Immerhin ist nach 5—7 Stunden die Dunkeladaptation so gut wie vollendet, eine Zeitspanne, die ungefähr der von *Tansley*¹¹ gefundenen Regenerationszeit (4 Stunden) entspricht.

Wir verfolgten in weiteren Versuchen, die in Tabelle 5 niedergelegt sind, den gleichen Vorgang, aber beim toten Tier bzw. beim herausgenommenen Auge, das wieder in die Augenhöhle zurückgelegt wurde, um es vor dem Vertrocknen zu schützen. In Versuch 90 wurde das seit Tagen dunkeladaptierte Tier für 5 Minuten dem Tageslicht ausgesetzt, dann getötet. Das 1. Auge wurde sofort untersucht. Es enthielt reichlich Leuchtstoff im Pigmentepithel und seine Netzhaut war gebleicht. Das 2. Auge wurde herauspräpariert und dann in die Augenhöhle zurückgelegt, 3 Stunden in die Dunkelheit gebracht und danach untersucht. Auch seine Netzhaut war blaß und im Pigmentepithel fand sich ebensoviel Leuchtstoff wie im ersten Auge.

In Versuch 95 wurden die dunkeladaptierten Augen 10 Minuten belichtet, dann das Tier durch Nackenschlag getötet. Das 1. Auge wurde sofort untersucht und ergab dasselbe Bild wie in Versuch 90. Das 2. Auge wurde im Tier belassen und 6 Stunden in die Dunkelheit gebracht. Seine Netzhaut war ebenfalls blaß, aber der Leuchtstoff im Pigmentepithel schien eher zugenommen zu haben. Dieses Ergebnis

wurde in 2 weiteren Versuchen bestätigt, in denen aber die Belichtung erst nach dem Tode des dunkeladaptierten Tieres durchgeführt wurde.

In Versuch 110 wurden beide Augen 15 Minuten belichtet, das 1. Auge gleich untersucht, das 2. im Tier belassen und $7\frac{3}{4}$ Stunden in die Dunkelheit gebracht. Auch hier war eine deutliche Zunahme des Leuchtstoffes zu verzeichnen, während die Netzhaut in beiden Augen gebleicht war. Ebenso war im Versuch 111, in dem die Belichtungszeit 15 Minuten war, das 2. Auge aber herauspräpariert und wieder in die Augenhöhle zurückgelegt und dann 8 Stunden der Dunkelheit ausgesetzt wurde, eine Vermehrung des Leuchtstoffes im 2. Auge deutlich.

Aus diesen Versuchen gewinnt man den Eindruck, daß der Prozeß, der zur Bildung des sichtbaren Leuchtstoffes führt, auch im Auge des toten Tieres noch weiter gehen kann, wenn er durch kurze Belichtung des lebenden oder noch nicht lange toten Auges eingeleitet wird, selbst wenn das betreffende Auge völlig im Dunkeln gehalten wird. Dagegen tritt im nicht belichteten, dunkeladaptierten Auge nach dem Tode Leuchtstoff nicht auf, wie die Versuche 106 und 109 zeigten (s. Tabelle 3).

Eine deutliche Änderung des Sehpurpurchaltes des zweiten gegenüber dem ersten Auge war in den Versuchen der Tabelle 5 nicht zu erkennen. Immerhin mußte man nach den makroskopischen Befunden an den Netzhäuten der Versuche 110 und 111 eher an eine Nachbleichung des noch erhaltenen Sehpurpurs denken als an eine Regeneration, wie man sie nach den Angaben des Schrifttums erwarten möchte.

Ein neuer Versuch (115) brachte hier noch einen Schritt weiter. Das weibliche, weiße, 180 g schwere Tier war 2 Tage im Dunkeln gehalten worden und wurde durch Nackenschlag getötet. Dann wurden beide Augen gleichmäßig 90 Sekunden lang dem diffusen, hellen Tageslicht ausgesetzt. Ein Auge wurde sofort entfernt, das zweite 7 Stunden 35 Minuten lang im Tier und im Dunkeln belassen und anschließend untersucht. Die Netzhaut des 1. Auges hatte makroskopisch eine gelbrose Farbe, während die des 2. grauweiß war. Im Pigmentepithel des 1. Auges fanden sich nur ganz geringe Mengen von Leuchtstoff in feinsten, im UV-Licht sofort verschwindenden Körnchen, während im 2. Auge sehr reichlich gröbere Körnchen zu erkennen waren. Es bestätigte sich also auch in diesem Versuch die Erfahrung, daß im belichteten Auge des toten Tieres, wenn es später im Dunkeln gehalten wird, sich die Menge des Leuchtstoffes vermehrt.

Nach der makroskopischen Untersuchung der Netzhäute spielte sich gleichzeitig der Wechsel von einer gelbrose zu einer grauweißen Farbtonung ab. Es ist anzunehmen, daß diese Änderung der Farbe der Netzhaut einem Übergang von Sehorange bzw. Sehgelb in Schweiß entspricht, vielleicht neben einem Zerfall des restlichen Sehpurpurs.

Tabelle 5.

Versuchs-Nr.	Geschlecht	Gewicht in g	Erstes Auge			Zweites Auge			Leuchtstoffgehalt	
			Behandlung	Farbe der Netzhaut	Leuchtstoff	Behandlung	Farbe der Netzhaut	Leuchtstoff	Leber	Nebenniere
90	♂	150	seit Tagen dunkel, dann 5 Min. diffuses Tageslicht	weiß	II	behandelt wie 1. Auge, isoliert in Augenhöhle zurückgelegt 3 Stunden Dunkelheit	weiß	II	I	II
95	♂	150	seit Tagen im Dunkel, dann 10 Min. diffuses Tageslicht	weiß	II	erst wie Auge 1, dann nach Tötung des Tiers in Augenhöhle belassen. 6 Stunden im Dunkeln	weiß	II bis III	I	II
110	♂	230	seit 3 Tagen im Dunkel, nach Tötung 15 Min. belichtet. Diffuses Tageslicht wie Tier 110	weiß z. T. hell-rosa	I	behandelt wie Auge 1. Dann im Tier belassen. 7 Stunden 45 Min. im Dunkeln	weiß	II	III	II bis III
111	♀	215	seit 3 Tagen im Dunkel, dann 10 Min. diffuses Tageslicht	weiß, z. T. hell-rosa	I	behandelt wie Auge 1. Dann isoliert, in Augenhöhle, zurückgelegt, 8 Stunden im Dunkeln belichtet	weiß	I bis II	II	II bis III
115	♀	180	seit 2 Tagen im Dunkeln. Nach Tötung beide Augen 90 Sek. dem diffusen Tageslicht ausgesetzt, sofort untersucht	gelb-rosa	0--I	behandelt wie Auge 1. Nach Belichtung im Tier belassen. 7 Stunden 35 Min. im Dunkeln	weiß	II	II	III

Sehorange und Sehgelb bleichen nach den Untersuchungen von *Wald*^{12,13} und *Hosoya*⁴ im Dunkeln weiter. Es wäre vorstellbar, daß der Leuchtstoff erst beim Zerfall dieser Stoffe entsteht, eine Annahme, die *Wald* auch gemacht und in seinem bekannten Schema mitverwertet hat. Nach *Wald* findet man im Sehgelb neben einer Eiweißgruppe das Carotinoid „Retinin“, aus dem bei Übergang des Sehgelbs in Sehweiß Vitamin A frei wird.

Mit Hilfe der *Wald*schen Theorie sind jedoch die von uns im Abschnitt B niedergelegten Beobachtungen nicht ohne weiteres zu erklären. Man könnte daran denken, daß die dort festgestellte Tatsache, daß bei Belichtung dunkeladaptierter, isolierter Augen oder der Augen solcher Tiere, die schon vor Stunden getötet wurden, wenig oder kein Leuchtstoff entsteht trotz Bleichung des Sehpurpurs, während bei Belichtung der Augen frisch getöteter Tiere, die in der Augenhöhle belassen werden,

reichlich Leuchtstoff nachzuweisen ist, dadurch zu erklären ist, daß im ersten Falle die Augen abgekühlt sind und deshalb der temperaturabhängige Zerfall des Sehgelbs überhaupt nicht mehr oder nur in ganz beschränktem Maße stattfindet, während die von der Temperatur weniger abhängige Zersetzung des Sehpurpurs weiter vor sich geht. Es ist wohl möglich, daß wir bei der makroskopischen Betrachtung die Farbtöne des Sehgelbs und des Sehweiß nicht sicher voneinander unterscheiden konnten und deshalb bei Vorhandensein des einen oder anderen Farbstoffes nur einfach „Bleichung“ notierten.

D. Nachweis des Leuchtstoffes im Auge der dunkelpigmentierten Ratte.

Nachdem wir festgestellt hatten, unter welchen Bedingungen es zu einer Leuchtstoffbildung im Auge der Albinoratte kommt, war unsere nächste Aufgabe, die Verhältnisse am pigmentierten Auge zu untersuchen. In Versuch 83 war eine normale, dunkle Ratte seit Tagen im Dunkeln gehalten worden. Ein Auge wurde in Narkose entfernt und sofort untersucht. Die Netzhaut war makroskopisch dunkelrosa. Der Durchschnitt durch das gefrorene Auge ergab eine sattbraunrote Lumineszenz der Sinneszellenschicht, während das dunkle Pigmentepithel nicht deutlich von der Chorioidea abzugrenzen war. Die Aufsicht auf das Pigmentepithel ließ nur ganz geringe Spuren von Leuchtstoff in feinsten Körnchen neben einer braunen Färbung erkennen. Im Gefrierschnitt war die breite pigmentierte Innenzone des Pigmentepithels von der Chorioidea durch eine schmale, nicht pigmentierte äußere Zone getrennt, die keine lumineszierende Substanz enthielt.

Nach der Entfernung des ersten Auges wurde das Tier 65 Minuten lang dem diffusen Tageslicht ausgesetzt und dann getötet. Die Netzhaut war jetzt makroskopisch hell. Im Durchschnitt durch das gefrorene Auge zeigte die Sinneszellenschicht eine diffuse, grüne Lumineszenz. Die Aufsicht auf das Pigmentepithel ergab deutliche Leuchtstoffkörnchen von viel größerer Leuchtkraft als im ersten Auge. Im Gefrierschnitt fanden sich reichliche Leuchtstoffkörnchen in der schmalen, nicht pigmentierten Außenschicht des Pigmentepithels; die breite Innenschicht war dunkel pigmentiert.

In unserem zweiten Versuch wurde nach Herausnahme des ersten, dunkeladaptierten Auges in Narkose das 2. Auge noch in Narkose 5 Minuten dem diffusen Tageslicht ausgesetzt und dann getötet. Auch bei diesem Tier war im ersten Auge Leuchtstoff nicht nachzuweisen, während er im belichteten Auge in der Sinneszellenschicht und in der Außenzone des Pigmentepithels deutlich wahrzunehmen war.

Mit diesen beiden Versuchen war bewiesen, daß die Verhältnisse im dunkelpigmentierten Rattenauge prinzipiell die gleichen sind wie im Auge der Albinoratte. Nach Belichtung tritt Leuchtstoff mehr diffus in der Sinneszellenschicht auf, in der die sattbraunrote Lumineszenz

des Sehpurpurs verschwindet. Daneben findet sich Leuchtstoff in Körnchenform im Pigmentepithel, in dessen unpigmentierter Außenzone er deutlich sichtbar ist. Ob in der breiten Innenzone des Pigmentepithels der Leuchtstoff nur durch das dunkle Pigment verdeckt wird, oder ob hier tatsächlich kein Leuchtstoff vorhanden ist, ließ sich nicht entscheiden. Immerhin schien die Menge des entstehenden und sichtbaren Leuchtstoffes geringer als beim Auge der Albinoratte. Wir verzichteten deshalb auf die Durchführung weiterer Versuche, die denen am Albino-auge entsprochen hätten, da keine besonderen Ergebnisse zu erwarten waren, nachdem die prinzipielle Gleichartigkeit der Reaktion festgestellt worden war.

Auf eine Tatsache möchten wir jedoch noch kurz hinweisen. Beim Vergleich des Leuchtstoffgehalts der Leber und der Nebennieren albinotischer und pigmentierter Ratten gleicher Größe, gleichen Geschlechts und Alters, die vielfach aus demselben Stall stammten, völlig gleich ernährt wurden, und von uns gezüchtet worden waren, fiel uns immer wieder auf, daß der Leuchtstoffgehalt in den Organen pigmentierter Tiere meist viel geringer war als in denen unpigmentierter. Fütterte man die Tiere mit einer Kost, die frei von Vitamin A war, so wiesen dagegen meist zuerst die albinotischen Tiere, erst später die pigmentierten Tiere, Zeichen von Avitaminose auf. Die weißen Tiere gingen auch eher an der Avitaminose zugrunde, und zwar starben meist zuerst die männlichen, dann die weiblichen Tiere. Die pigmentierten Weibchen waren am widerstandsfähigsten.

E. Das Verhalten des Leuchtstoffes im Auge von Ratten mit Hypervitaminose A.

Wir haben in früheren Untersuchungen gesehen, daß der Leuchtstoffgehalt der Leber, der Nebenniere und anderer Organe sich bei Fütterung von Carotin oder Vitamin A steigert. Es erschien wichtig, zu untersuchen, ob auch der Leuchtstoffgehalt des Auges bei solchen Tieren eine Änderung erfährt.

In Versuch 92 hatte ein weißes, männliches Tier im Verlauf von 6 Tagen 120 000 E Vogan zu seinem gewöhnlichen Futter hinzubekommen. Es war tagelang im Dunkeln gehalten worden und das erste Auge wurde in Narkose möglichst im Dunkeln entfernt. Die Untersuchung ergab eine dunkelrosa gefärbte Netzhaut, im Lumineszenzmikroskop eine sattbraunrot gefärbte Sinneszellenschicht und eine leuchtend gelbe Farbe des Pigmentepithels. Leuchtstoff war nur in Spuren nachzuweisen.

Das 2. Auge wurde in der Narkose 1 Minute lang dem diffusen Tageslicht ausgesetzt und dann untersucht. Dabei ergab sich eine Bleichung der Netzhaut, deren Farbe nur noch hellrosa war. Im Lumineszenzmikroskop war die Farbe der Sinneszellenschicht hellbraun, das Pigment-

Tabelle 6.

Versuchs- Nr.	Ge- schlecht	Farbe	Kost	Erstes Auge		Zweites Auge		Leuchtstoff- gehalt	
				Behandlung	Leucht- stoff	Behandlung	Leucht- stoff	Leber	Neben- niere
92	♂	weiß	normal, da- zu 120000 E. Vogan in 6 Tagen	seit Tagen im Dunkeln	Spuren	1 Min. diffuses Tageslicht in Narkose	I	III	III
97	♂	weiß	normal, da- zu 120000 E. Vogan in 6 Tagen	seit Tagen im Dunkeln	Spuren	45 Min. im dif- fusen Tageslicht nach Tötung	II	III	III
100	♂	dunkel	normal, da- zu 120000 E. Vogan in 6 Tagen	seit Tagen im Dunkeln	Spuren	5 Min. in Nar- kose im diffusen Tageslicht	I	III bis IV	III

epithel leuchtend grün. In Leber und Nebenniere war die Leuchtintensität des Leuchtstoffes stark gesteigert, wie man es bei der Hypervitaminose A sieht. Das Tier selbst war im Verlaufe der Voganfütterung stark heruntergekommen.

Die Versuche 97 und 100 (s. Tabelle 6) ergaben mit anderen Belichtungszeiten bei einem weißen und einem dunkel pigmentierten hypervitaminotischen Tier prinzipiell die gleichen Ergebnisse.

Von Wichtigkeit scheint uns vor allem die Feststellung, daß trotz starker Vitamin-A-Anreicherung im Tiere bei Dunkeladaptation kein Leuchtstoff im Auge zu sehen ist. Wenn wir Spuren nachweisen konnten, so kann das daran liegen, daß eben eine Entfernung und Bearbeitung des Auges völlig im Dunkeln praktisch nicht möglich ist, so daß wir immer mit einer ganz geringen Belichtung rechnen müssen. Aber auch ein erheblicher quantitativer Unterschied der Reaktion zwischen Augen von normal gefütterten und hypervitaminotischen Tieren war nicht zu erkennen, im Gegensatz zu den Befunden an Leber und Nebennieren, in denen eine deutliche Vermehrung des Leuchtstoffes nachzuweisen war. Man gewinnt den Eindruck, daß im Auge ein Speicher für die Vorstufe des Leuchtstoffes vorhanden ist, der schon beim Normaltier so gut wie völlig aufgefüllt ist und der die Anhäufung größerer Vorräte nicht erlaubt.

F. Das Verhalten des Leuchtstoffes im Auge von Ratten mit Hypovitaminose A.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengefaßt. Die Tiere waren fast 2 Monate lang Vitamin-A-frei ernährt worden (Diät: Casein 17%, Reisstärke 64%, Futterhefe 9%, Sesamöl 5%, Salzgemisch *McCullum* 5%). Mehrere Tiere der Reihe waren schon unter den Zeichen der Avitaminose zugrunde gegangen.

Tabelle 7.

Versuchs-Nr.	Geschlecht	Gewicht in g	Vitamin-A-freie Kost seit Tagen	Erstes Auge		Zweites Auge		Leuchtstoffgehalt	
				Behandlung	Leuchtstoff	Behandlung	Leuchtstoff	Leber	Nebenniere
69	♀	95	56	1 Stunde im diffusen Tageslicht	I—II	22 Stunden im Dunkeln	0	0	0
70	♀	110	57	1 Stunde im diffusen Tageslicht	Spuren	22 Stunden im Dunkeln	0	0	0
72	♀	115	58	seit Tagen im Dunkeln	0	75 Min. im diffusen Tageslicht	I—II	0	0—1
116	♀	85	48	2 Stunden im hellen Tageslicht	1	—	—	0	0
119	♂	95	50	seit Tagen im Dunkeln	0	30 Min. im diffusen Tageslicht	I—II	0	0

Im Versuch 69 wurde die Ratte, die seit 5 Tagen ein Dauerschollenstadium zeigte, sonst aber außer der Abmagerung wenig äußere Zeichen der Avitaminose bot, 1 Stunde lang dem diffusen Tageslicht ausgesetzt und hierauf ein Auge in Narkose entfernt. Die Untersuchung ergab einen Leuchtstoffgehalt des Pigmentepithels von recht guter Intensität. Das Tier wurde nach Entfernung des ersten Auges 22 Stunden im Dunkeln gehalten und dann getötet. Die Untersuchung des 2. Auges ergab keine Spur von Leuchtstoff, auch Leber und Nebennieren waren leuchtstofffrei.

Im Versuch 70, der ganz gleichartig aufgezogen wurde, waren auch im belichteten Auge nur noch Spuren von Leuchtstoff zu erkennen, die im Dunkelauge fehlten. Die inneren Organe waren leuchtstofffrei. Äußerlich bot das Tier neben Magerkeit eine Lidrandentzündung. Außerdem befand es sich ebenfalls im Dauerschollenstadium.

Auch der Versuch 72 brachte ein entsprechendes Ergebnis. Hier wurde erst ein seit Tagen dunkeladaptiertes Auge entfernt, dann das Tier 75 Minuten lang dem Licht ausgesetzt. Während im 1. Auge keine Spur von Leuchtstoff zu entdecken war, war dieser im 2. Auge reichlich im Pigmentepithel vorhanden. In der Leber war kein Leuchtstoff nachzuweisen, in der Nebennierenrinde nur ganz wenig.

Die Ratte im Versuch 116 war 48 Tage lang vitaminfrei ernährt worden und wurde in sehr schlechtem Zustande im Stall angetroffen. Sie wurde sofort 2 Stunden dem hellen Tageslicht ausgesetzt, wonach sie verendete. Äußerlich war das Tier mager und struppig. Die Schnauzhaare waren ausgegangen und auf beiden Augen fand sich eine beginnende Keratomalacie. Trotzdem waren bei der Untersuchung der Augen feine Leuchtstoffkörnchen im Pigmentepithel zu finden, während Leber und Nebennieren frei von Leuchtstoff waren.

Versuch 119 ist besonders wichtig, weil hierbei auch eine chemische Untersuchung der Leber auf Vitamin A durch Dr. *Rechenberger* vom

Physiol.-Chem. Institut der Universität Jena (Direktor: Prof. *Lintzel*) vorgenommen wurde. Die männliche, weiße Ratte war 50 Tage lang vitamin-A-frei ernährt worden und zeigte Wachstumsstillstand, Magerkeit und Lidrandentzündung. Seit Tagen war das Tier im Dunkeln gehalten worden. Ein Auge wurde möglichst im Dunkeln in Narkose entfernt, dann das Tier 30 Minuten lang dem diffusen Tageslicht ausgesetzt und getötet.

Die Untersuchung des ersten Auges ergab einen Befund wie beim dunkeladaptierten Auge eines Normaltieres. Makroskopisch war die Netzhaut dunkelrosa gefärbt. Im Lumineszenzlicht fiel die sattbraunrote Färbung der Sinneszellenschicht auf, die der eines Normalauges nichts an Intensität nachgab. Leuchtstoff war keine Spur im Auge nachzuweisen, das Pigmentepithel zeigte eine leuchtend gelbe Farbe.

Die Netzhaut des zweiten Auges war makroskopisch grauweiß. Mikroskopisch waren Pigmentepithel und Sinneszellenschicht grün gefärbt, ersteres wie gewöhnlich wesentlich intensiver. Im Pigmentepithel waren bei Auflichtbetrachtung reichliche Leuchtstoffkörnchen von starkem Leuchtvermögen zu sehen. Weder in der Leber, noch in den Nebennieren war histologisch Leuchtstoff nachzuweisen. Die chemische Untersuchung der Leber ergab keine Spur von Vitamin A.

Die Versuche erbringen als wichtigstes Ergebnis die Feststellung, daß bei Tieren, die schon äußerlich Zeichen von Avitaminose A aufweisen und deren innere Organe, vor allem Leber und Nebennieren, völlig leuchtstofffrei sind, ja deren Leber auch chemisch keine Spur von Vitamin A mehr enthält, trotzdem noch im Pigmentepithel des belichteten Auges Leuchtstoff vorhanden sein kann. Das Auge scheint also das Organ zu sein, das den Leuchtstoff am längsten enthält und am schwersten völlig abgibt. Nach dem Ergebnis von Versuch 70 ist es jedoch möglich, daß unter Umständen der Leuchtstoff auch aus dem Auge so gut wie vollständig verschwindet.

Wichtig ist ferner eine Beobachtung, die wir in allen Versuchen der Tabelle 7, besonders aber in Versuch 119 machten, weil wir hier besonders darauf achteten, daß nämlich trotz des völligen Fehlens des Vitamins A in den inneren Organen die Intensität der Lumineszenzfarbe des Sehpurpurs in der Sinneszellenschicht nicht gegenüber normalen Augen verringert erschien. Diese Feststellung ist deswegen bemerkenswert, weil im Schrifttum beim Menschen häufig als erstes Zeichen einer Hypovitaminose A gerade eine Verzögerung der Dunkeladaptation, die doch eng mit der Sehpurpuregeneration zusammenhängt, beschrieben wird. Hier scheint ein Widerspruch zu bestehen, der erst durch weitere Untersuchungen geklärt werden muß.

Wir haben in einer früheren Arbeit¹³ beschrieben, daß nach Verfütterung von Vitamin A und Carotin an Ratten mit Avitaminose A in der Netzhaut reichlich Leuchtstoff zu finden war, ehe in der Leber

überhaupt Spuren auftraten. Wir müssen heute feststellen, daß wir damals wahrscheinlich einer Täuschung zum Opfer gefallen sind, weil mit größter Wahrscheinlichkeit damals trotz der vitaminfreien Fütterung noch Leuchtstoff im Pigmentepithel vorhanden war.

G. Der Leuchtstoff im Auge von anderen Laboratoriumstieren.

Unsere Untersuchungen befaßten sich schließlich damit, ob auch bei anderen Laboratoriumstieren entsprechende Vorgänge bei Belichtung der Augen nachzuweisen sind wie bei der Ratte.

1. Meerschweinchen. Tabelle 8 bringt unsere Versuchsergebnisse am Auge vom Albinomeerschweinchen. In Versuch 89 und 93 waren die Tiere 12 Stunden bzw. 2 Tage im Dunkeln gehalten worden. Dann wurde ein Auge in Narkose möglichst im Dunkeln entfernt. Auch die weitere Untersuchung wurde möglichst im Dunkeln vorgenommen; jedoch war die Einwirkung von Dämmerlicht nicht zu vermeiden. In beiden Augen war die Netzhaut makroskopisch rosa; im Pigmentepithel war Leuchtstoff in ziemlicher Menge und in groben Tropfen nachzuweisen, die nur langsam bei Einwirkung des UV-Lichts erloschen. Die Sinneszellenschicht hatte eine hellbraune Farbe.

Beide Tiere wurden nach Entfernung des ersten Auges weiter in Narkose gehalten und das 2. Auge in Versuch 89 5 Minuten lang, dem diffusen Tageslicht, in Versuch 93 1 Minute lang dem Sonnenlicht ausgesetzt, und dann die Tiere getötet. Die Netzhäute zeigten im 2. Auge bei beiden Tieren eine weiße Farbe. Im Pigmentepithel war bei beiden Tieren eine Vermehrung des Leuchtstoffs zu erkennen, die in Versuch 93 sogar sehr erheblich war. Dabei war es weniger zu einer Vermehrung der Anzahl der Leuchtstofftropfen, als vielmehr zu einer Vergrößerung und zu einem stärkeren Leuchten des einzelnen Tropfens gekommen. Auch die Sinneszellenschicht zeigte im 2. Auge nicht mehr eine braune, sondern eine diffuse, grüne Farbe.

Tabelle 8.

Versuchs-Nr.	Geschlecht	Gewicht in g	Erstes Auge			Zweites Auge			Leuchtstoff- gehalt	
			Behandlung	Farbe der Netz- haut	Leucht- stoff	Behandlung	Farbe der Netz- haut	Leucht- stoff	Leber	Neben- niere
89	♀	450	seit 12 Stunden im Dunkeln	rosa	I—II	5 Min. diffuses Licht in Narkose	weiß	II	0	I—II
93	♂	445	seit 2 Tagen im Dunkeln	rosa	I—II	1 Min. Sonnen- licht in Narkose	weiß	II—III	I—II	0
94	♂	570	seit Tagen im Dunkeln, im Dunkeln getötet	rosa	Spuren	totes Auge 35 Min. im dif- fusen Tageslicht	weiß	III	I	I—II

Nach den in Versuch 89 und 93 gewonnenen Befunden war es sicher, daß auch bei Belichtung des Meerschweinchenauges eine Vermehrung des Leuchtstoffgehaltes des Pigmentepithels und gleichzeitig der Sinneszellenschicht eintrat. Jedoch war, im Gegensatz zu den Befunden bei den Ratten, schon im ersten, dunkeladaptierten Auge Leuchtstoff nachzuweisen. Es war die Frage zu entscheiden, ob dieser Leuchtstoff schon im völlig dunkeladaptierten Auge vorhanden war oder ob er erst im Laufe der Operation, die nicht ganz im Dunkeln erfolgen konnte, entstand.

Diese Frage wurde im Versuch 94 entschieden. Das Tier war seit Tagen im Dunkeln gehalten worden und wurde in der Dunkelkammer durch Nackenschlag und Entbluten getötet. Das erste Auge wurde möglichst völlig im Dunkeln untersucht. Die Netzhaut war makroskopisch rosa; im Pigmentepithel fanden sich nur Spuren von Leuchtstoff in feinsten sofort verschwindenden Körnchen. Im Durchschnitt durch das gefrorene Auge war das Pigmentepithel leuchtend gelb gefärbt, die Sinneszellenschicht braunrot.

Das 2. Auge wurde im Tier belassen und 35 Minuten lang dem diffusen Tageslicht ausgesetzt. Die Netzhaut war grauweiß. Im Durchschnitt durch das gefrorene Auge war jetzt das Pigmentepithel leuchtend grün, ebenso wie die Sinneszellenschicht. Bei Aufsicht und im Gefrierschnitt fanden sich im Pigmentepithel zahlreiche grobe, grün leuchtende Tropfen, die im UV-Licht nur langsam schwanden.

Durch Versuch 94 wurde somit bewiesen, daß im dunkeladaptierten Auge des Meerschweinchens der Leuchtstoff ebenso fehlt wie im dunkeladaptierten Rattenauge. Die „Lichtempfindlichkeit“ scheint jedoch noch größer zu sein als die des Rattenauges, so daß schon bei der gewöhnlichen Bearbeitung im Dämmerlicht reichlich Leuchtstoff entsteht. Im Gegensatz zum Rattenauge wird dieser Leuchtstoff in einer anscheinend begrenzten Zahl von großen Tropfen abgelagert, deren Leuchtkraft sich bei Zunahme des Leuchtstoffes immer steigert. Wie wir bei Fettfärbung von Gefrierschnitten feststellen konnten, findet man im Pigmentepithel des dunkeladaptierten und des belichteten Meerschweinchenauges gröbere Fetttropfen, die wahrscheinlich den Leuchtstoff in sich aufnehmen.

Die Sinneszellenschicht war im dunkeladaptierten Meerschweinchenauge, wie aus Versuch 94 hervorgeht, von einem braunrot lumineszierenden Stoff erfüllt, der wohl wie im Rattenauge dem Sehpurpur entspricht. Die Lumineszenz dieser Schicht war jedoch nicht so intensiv und satt wie im dunkeladaptierten Rattenauge. Dies ist mit der Angabe v. Studnitzs¹⁰ in Einklang zu bringen, daß die Netzhaut des Meerschweinchens neben der des Hundshais den geringsten Sehpurpurgehalt aller bisher untersuchten Netzhäute aufweise.

2. *Kaninchen*. Ein Albinokaninchen von etwa 2000 g Gewicht, das die gewöhnliche Stallkost erhalten hatte, wurde am 16. 8. 40 im Dunkeln durch Nackenschlag und Entbluten getötet, nachdem es 1 Tag lang

völlig im Dunkeln gesessen hatte. Das erste Auge wurde, soweit als möglich, im Dunkel bzw. Dämmerlicht untersucht. Die Farbe der Netzhaut bei Betrachtung mit dem bloßen Auge war hellrot. Bei Aufsicht auf das Pigmentepithel fanden sich im UV-Licht ziemlich grobe und reichliche Leuchtstofftropfen, die nur langsam verschwanden. Auf dem Durchschnitt durch das gefrorene Auge war das Pigmentepithel deutlich grüngelb, die Sinneszellenschicht braun. Auch im Gefrierschnitt waren im Pigmentepithel ziemlich große, stark leuchtende Tropfen von Leuchtstoff zu finden.

Das 2. Auge wurde nach dem Tode des Tieres 40 Minuten lang dem diffusen Tageslicht ausgesetzt. Die Netzhaut war makroskopisch weiß, im Pigmentepithel fanden sich sehr reichlich große, nur langsam erlöschende Tropfen von Leuchtstoff. Auf dem Durchschnitt durch das gefrorene Auge war das Pigmentepithel rein grün und leuchtete mit stärkerer Intensität als im ersten Auge. Die Sinneszellenschicht zeigte ebenfalls eine grüne Farbe. Im Gefrierschnitt waren im Pigmentepithel große Tropfen von Leuchtstoff zu erkennen, die vielfach aussahen, als ob sie aus mehreren kleineren Tropfen zusammengefloßen wären. Der Leuchtstoff schwand nur ganz langsam. In der Leber leuchteten die Sternzellen in mittlerer Intensität. Der Leuchtstoffgehalt der Nebennierenrinde war nur gering.

Nach diesem Versuch war zu schließen, daß im Kaninchenauge die Vorgänge bei der Belichtung denen im Auge der Ratte und noch mehr des Meerschweinchens entsprachen. Allerdings war auch im dunkeladaptierten Auge im Pigmentepithel recht reichlich Leuchtstoff vorhanden. Es war die Frage, ob dieser Leuchtstoff infolge der allerdings ganz geringen Belichtung während der Tötung des Tieres und der Herausnahme und Bearbeitung des Auges entstanden war, oder ob auch im völlig dunkeladaptierten Auge des Kaninchens noch Leuchtstoff vorhanden ist.

In einem zweiten Versuch wurde das Tier, ein Albinokaninchen von etwa 1800 g, das 3 Tage lang im Dunkel gesessen hatte, durch Chloroformnarkose völlig in der Dunkelheit getötet. Auch die Herausnahme und Bearbeitung des Auges erfolgte fast völlig ohne Beleuchtung. Trotzdem waren im Pigmentepithel große Tropfen von Leuchtstoff nachzuweisen. Die Sinneszellenschicht war braun, die Netzhaut makroskopisch hellrot. Der Befund entsprach ganz dem beim dunkeladaptierten Auge des ersten Kaninchens.

Das zweite Auge wurde 12 Stunden im Tier im Dunkel belassen und dann 20 Minuten dem hellen Tageslicht ausgesetzt. Die Untersuchung ergab eine deutliche Zunahme der Intensität des Leuchtstoffes im Pigmentepithel und eine Abblassung der Netzhaut.

Der gleichartige Ausfall beider Versuche beim Kaninchen macht wahrscheinlich, daß entweder schon im dunkeladaptierten Auge des

Kaninchens im Pigmentepithel Leuchtstoff, wenn auch nur in relativ geringer Intensität, vorhanden ist, oder jedenfalls bei Einwirkung nur geringster Lichtmengen entsteht. Es ergibt sich somit, daß von den Augen der 3 untersuchten Nager das Rattenauge am wenigsten schnell mit Bildung von Leuchtstoff auf Belichtung reagiert, das Meer-schweinchenauge schneller; das Kaninchenauge scheint in dieser Hinsicht am empfindlichsten zu sein.

3. *Frosch*. Ein männlicher, mittelgroßer Frosch (*Rana temporaria*) wurde am 15. 8. 40 mehrere Stunden im Dunkeln gehalten und durch Dekapitation im Dunkeln getötet. Das erste Auge wurde sofort untersucht, das zweite in der Augenhöhle belassen und 2 Stunden lang dem diffusen Tageslicht bei offener Pupille ausgesetzt.

Im Durchschnitt durch das erste, gefrorene Auge waren Pigmentepithel und Chorioidea stark pigmentiert und nicht deutlich zu trennen. Bei Aufsicht auf das Pigmentepithel fanden sich nur in der Gegend der Ora serrata einige Tropfen einer leuchtstoffähnlichen Substanz, die allerdings eine mehr ins Gelbe gehende Farbe hatten. Die Netzhaut war makroskopisch hellrot gefärbt.

Im 2. Auge war sie dagegen weiß. Im Durchschnitt durch das gefrorene Auge fand sich ebenso wie im Gefrierschnitt zwischen Chorioidea und dem pigmentierten Teil des Pigmentepithels ein dünner Streifen von diffuser grüngelber Lumineszenz, darin auch einzelne, gröbere, leuchtende Körnchen. Auch bei Aufsicht auf das Pigmentepithel sind neben braun geränderten Feldern feinere und gröbere Leuchtstoffkörnchen sichtbar. In den Sternzellen der Leber waren reichlich ziemlich große Tropfen von grüngelbem Leuchtstoff zu finden, die bei UV-Belichtung nur langsam schwanden.

Soweit man aus einem Versuch Schlüsse ziehen darf, entsprechen die Vorgänge bei Belichtung des Froschauges ganz denen im Rattenauge; allerdings ist die Beobachtung durch das reichliche, dunkle Pigment erschwert. Im dunkeladaptierten Auge waren nur geringe Mengen von Leuchtstoff an der Ora serrata anzutreffen, was ganz den Befunden bei der Ratte entspricht (s. unten); nach Belichtung dagegen war reichlich Leuchtstoff im Pigmentepithel aufgetreten, wo er, wie im pigmentierten Rattenauge, nur in der äußersten Zone sichtbar wurde. Eigenartig war der mehr ins Gelbe gehende Farbton des Leuchtstoffes, der auch in der Leber zu bemerken war, gegenüber der grünlichweißen Farbe des Leuchtstoffes bei der Ratte und den anderen untersuchten Nagern, sowie auch beim Menschen. Jedoch war ein ähnlicher Unterschied der Lumineszenzfarbe auch an anderen Strukturen aufgefallen, z. B. an der Sklera, die bei den Nagern leuchtend blau, beim Frosch grüngelb luminesziert.

Besprechung besonders der histologischen Befunde.

Nach der Aufzählung der von uns durchgeführten Versuche möchten wir kurz eine zusammenhängende Darstellung der histologischen Befunde geben, wie wir sie im Lumineszenzmikroskop am Auge, vor allem bei der Ratte, erhoben.

Im gut dunkeladaptierten Auge der Albinoratte wie der pigmentierten Ratte zeigte die *Sinneszellenschicht* (Stäbchen und Zapfen) eine sattbraunrote, gleichmäßige Lumineszenz. Nach Belichtung des Auges war sehr bald ein Übergang in einen hellbraunen Farbton, nach längerer Belichtung in einen braungrünen bis grünen zur erkennen. Wir konnten die sattbraunrote bis braune Lumineszenz der Sinneszellenschicht mit großer Wahrscheinlichkeit auf ihren Gehalt an Sehpurpur zurückführen, besonders da die Intensität der braunen Lumineszenz der Intensität der makroskopischen Rotfärbung der abgelösten Netzhaut parallel ging, die bekanntlich ebenfalls durch den Gehalt an Sehpurpur bedingt ist. Angaben über die Lumineszenzfarbe des Sehpurpurs waren im Schrifttum nicht zu finden.

Die grüne bei Belichtung schließlich in der Sinneszellenschicht auftretende Lumineszenz entsprach in ihrem Charakter ganz der im Pigmentepithel entstehenden. Nur war sie in der Sinneszellenschicht immer diffus, während sie im Pigmentepithel vielfach Körnchenform zeigte.

Das *Pigmentepithel* enthielt bei der dunkelpigmentierten Ratte, ebenso beim Frosch, reichlich dunkelbraunes Pigment. Nur gegen die Chorioidea blieb bei beiden Tieren ein schamler Streifen pigmentfrei. In diesem war bei dunkeladaptiertem Auge keine lumineszierende Substanz zu finden, im helladaptierten trat dagegen hier Leuchtstoff in Körnchenform auf, während das übrige Pigmentepithel unverändert blieb.

Bei der Albinoratte (ebenso beim Albinomeerschweinchen und -kaninchen) war der Befund auffallender. Das Pigmentepithel dieser Tiere zeigte im dunkeladaptierten Auge eine leuchtend gelbe Farbe, die bei UV-Bestrahlung nicht bemerkbar an Intensität verlor. Im Gefrierschnitt war zu erkennen, daß der gelb lumineszierende Stoff bei der Ratte in Form von zahlreichen feinen Körnchen angeordnet war. Bei Belichtung des Auges kam es zu einer schnellen Farbänderung. Die Farbe schlug von dem leuchtenden Gelb über Grüngelb in ein ebenso stark leuchtendes Grün um, das aber durch UV-Licht ziemlich schnell zerstört wurde. Auch der grün lumineszierende Stoff (unser „Leuchtstoff“) war bei der Ratte in feinen Körnchen angeordnet. Vielfach konnte man im Gefrierschnitt erkennen, wie nach Beginn der UV-Belichtung der grüne Farbton schwand und allmählich ein gelber bis gelbroter Farbton der Körnchen übrig blieb, der viel lichtbeständiger war.

Unsere bisherigen Versuche ließen nicht einwandfrei erkennen, ob der gelb leuchtende Stoff im Verlaufe der Belichtung schwindet oder

nur von grünem Leuchtstoff überdeckt wird. Es müssen weitere Untersuchungen angestellt werden, um zu entscheiden, ob außer dem örtlichen noch andere, engere Zusammenhänge zwischen den beiden Stoffen bestehen.

Nach unseren bisher gewonnenen Erfahrungen besteht jedenfalls eine gewisse Parallelität zwischen Verschwinden der sattbraunroten Luminescenz des Sehpurpurs in der Sinneszellenschicht und dem Auftreten des grüngelben Leuchtstoffes im Pigmentepithel. Diese Parallelität ist, wie aus den Versuchen der Abschnitte B und D hervorgeht und dort schon ausgeführt wurde, nicht vollständig. Vielmehr gibt es Fälle, in denen trotz Verschwinden des Sehpurpurs kein Leuchtstoff oder nur ganz geringe Mengen entstehen, andere, in denen längere Zeit nach Verschwinden des Sehpurpurs noch Leuchtstoff im Pigmentepithel sichtbar werden kann. Jedoch konnten wir nie beobachten, daß Leuchtstoff entsteht, ohne daß vorher Sehpurpur zerfallen wäre.

Wir haben schon betont, daß diese Beobachtungen in allen Punkten mit der Theorie *Walds*^{12d} übereinstimmen, nach der der Zerfall des Sehpurpurs über wahrscheinlich verschiedene Zwischenprodukte von gelber bis gelbroter Farbe (Sehgelb, Sehorange) zum Carotinoid „Retinin“ und schließlich zum Vitamin A führt. Während der Zerfall des Sehpurpurs von der herrschenden Temperatur in bestimmten Grenzen unabhängig ist und lediglich im Licht erfolgt, kann eine Zersetzung der gelben Produkte auch im Dunkeln vor sich gehen, ist aber von der Temperatur stärker abhängig. Unsere Beobachtungen in Abschnitt B und D könnten durch diese Eigenschaften der in Frage kommenden Stoffe erklärt werden.

Ob es sich bei unserem Leuchtstoff um reines Axerophthol (alkoholisches Vitamin A) oder um eine lumineszierende Verbindung desselben handelt — die im Vogan nach *Grab*² enthaltenen Ester lumineszieren ebenfalls — ist vorläufig nicht zu entscheiden. Dem von *v. Euler* und *Adler*¹ im Pigmentepithel und der Netzhaut nachgewiesenen Carotin entspricht der Leuchtstoff jedenfalls nicht, da das Carotin Luminescenz vermissen läßt, wie wir immer wieder feststellen konnten.

Jedenfalls ist das Auge ein schönes Beispiel dafür, daß im Körper Verbindungen oder Vorstufen des Vitamins A in nicht leuchtender Form gespeichert werden können, die dann unter bestimmten Umständen in die leuchtende Form übergehen, eine Vorstellung, die *wir*¹³ schon nach unseren früheren Untersuchungen an der Leber vertreten haben.

Was die Anwendung der *Waldschen* Theorie auf unsere Beobachtung am Auge erschwert, ist die schon erwähnte Tatsache, daß die ersten Spuren des Leuchtstoffes bei Lichteinwirkung im Pigmentepithel zu finden sind, während der Sehpurpur doch zweifellos in der Schicht der Stäbchen und Zapfen zerfällt. Man müßte also, wie schon betont, einen sehr schnellen Transport dieses Stoffes oder seiner Vorstufen aus der

Sinneszellenschicht in das Pigmentepithel hinein annehmen. Immerhin bestehen ja sehr enge Verbindungen zwischen diesen beiden Schichten, so daß die Annahme nicht gerade ganz unwahrscheinlich ist. Ferner ist auf die Beobachtung hinzuweisen, daß nach längerer Belichtung zweifellos auch diffus verteilter Leuchtstoff in der Sinneszellenschicht nachzuweisen ist, wo er im Laufe der Regeneration des Sehpurpurs wieder früh verschwindet. Man könnte sich vorstellen, daß in den frühen Stadien der Belichtung die geringen entstehenden Leuchtstoffmengen, die sofort in das Pigmentepithel weitertransportiert werden, durch die Farbe des Sehpurpurs verdeckt werden.

Die Ablagerung des Leuchtstoffes im Pigmentepithel der Meeresschweinchen und Kaninchen erfolgt, wie vergleichende Untersuchungen an Fettschnitten der Augen zeigten, mit sehr großer Wahrscheinlichkeit in schon vorgebildeten Fetttröpfchen. Beim Kaninchen sah man in den Fetttröpfchen stärker lichtbrechende, ebenfalls tropfenförmige Einschlüsse, oft in der Mehrzahl. Im Lumineszenzmikroskop lagen oft mehrere Leuchtstofftröpfchen entsprechend zusammen, so daß die Annahme nahe liegt, daß der Leuchtstoff in diesen Einschlüssen, die die Scharlachrotfarbe nicht annehmen, abgelagert sei.

Die Affinität des Leuchtstoffes zu Fettsubstanzen ist ja schon lange bekannt und wurde von uns¹³ in einer früheren Arbeit ebenfalls betont. Jedoch haben wir nachgewiesen, daß er auch an Stellen abgelagert sein kann, die keine Fettfärbung geben. Auch im Pigmentepithel der Ratte sind allerdings nur feinste Fetttröpfchen nachweisbar, die der Sitz des Leuchtstoffes sein könnten.

Eine weitere von uns gemachte Beobachtung möchten wir nicht unerwähnt lassen. Wir fanden zwar nie in dunkeladaptierten Rattenaugen Leuchtstoff im Pigmentepithel in den mittleren Teilen des Auges aber gar nicht selten, besonders bei dunkelpigmentierten, aber auch bei weißen Tieren, in der Gegend der Ora serrata. Dort beobachtete man oft runde Tropfen von einer Größe und Leuchtkraft, wie sie sonst nicht vorkam. Weiter sah man hier häufig nicht nur diese tropfenförmige Ablagerung im Pigmentepithel, sondern eine diffuse Anfärbung der dort sich stark verschmälernden Leitschichten der Netzhaut, die oft durch einen schmalen, stark grüngelb leuchtenden Streifen, vom nicht lumineszierenden Glaskörper getrennt erschien. Bei Vergleich des dunkeladaptierten und des belichteten Auges derselben Ratte konnte man feststellen, daß der Leuchtstoffgehalt der Ora-serrata-Gegend unverändert bestehen blieb.

Diese Beobachtung ist deshalb wichtig, weil in manchen Arbeiten (*Krause und Sidwell*⁷) betont wird, daß auch in den Leitschichten der Netzhaut Vitamin A gefunden werde, über dessen Bedeutung man sich nicht im klaren ist. Da bei der Präparation, wie wir sehr häufig selbst erlebten, gerade an der Ora serrata Teile des Pigmentepithels an der

Netzhaut haften bleiben, ist es verständlich, daß die dort abgelagerten Substanzen in Extrakte aus der Netzhaut gelangen.

Wir möchten nach unseren Beobachtungen jedoch das Vorkommen einer gewissen Menge von Vitamin A auch in zentralen Teilen der Netzhautleitschichten nicht ganz ausschließen. Im normalen Auge zeigen die Leitschichten eine blaugrüne, geringe Lumineszenz. Man kann deutlich mehr blau gefärbte Schichten von grünlich gefärbten unterscheiden. Diese allerdings schwache Lumineszenz schwindet weitgehend in Augen von Ratten mit Avitaminose A, so daß man annehmen könnte, daß sie von einer diffusen Einlagerung von geringen Vitamin A-Mengen herrühren könnte. Für eine solche Möglichkeit spricht auch der oben erwähnte deutlich sichtbare Übergang des Leuchtstoffes vom Pigmentepithel auf die Netzhaut in der Gegend der Ora serrata.

Es wäre also nach unseren Befunden durchaus verständlich, daß *Krause* und *Sidwell*⁷ in den Leitschichten der Netzhaut Vitamin A fanden. Daß der Gehalt der Netzhaut bzw. der Präparate aus ihr (aus der Arbeit von *Krause* und *Sidwell* ist nicht sicher zu entnehmen, was sie meinen) an Vitamin A bei Sonnenbelichtung abnimmt (nicht zunimmt, wie *v. Studnitz*¹⁰ angibt!), ist nicht weiter verwunderlich, da ja die Neubildung des Leuchtstoffes nur in Sinneszellenschicht und Pigmentepithel statthat und das Vitamin A durch Sonnenlicht zerstört wird.

Zusammenfassung.

1. Die Versuche von *Jancsó* und *Jancsó*⁵ am Rattenauge, in denen das Auftreten von *Quernerschem* „Leuchtstoff“ (Vitamin A) im Pigmentepithel des belichteten Auges bei Beobachtung mit dem Lumineszenzmikroskop festgestellt wurde, werden wiederholt, die Ergebnisse bestätigt und erweitert.

2. Im dunkeladaptierten Auge der Albinoratte findet man in der Schicht der Stäbchen und Zapfen einen sattbraunrot lumineszierenden Stoff, der mit großer Wahrscheinlichkeit dem Sehpurpur entspricht. Das Pigmentepithel luminesziert leuchtend gelb. Dieser gelb lumineszierende Stoff ist in feinen Körnchen lokalisiert.

3. Nach Belichtung des Auges verschwindet die Lumineszenz des Sehpurpurs; im Pigmentepithel tritt sofort, später auch in der Sinneszellenschicht, eine grüne Lumineszenz auf, die mit großer Wahrscheinlichkeit durch Vitamin A oder eine Verbindung desselben hervorgerufen wird.

4. Entsprechende Vorgänge sind auch im Auge der pigmentierten Ratte, des Meerschweinchens, Kaninchens und Frosches nachweisbar.

5. Auch bei Ratten mit Hyper- und Hypovitaminose A sind die Befunde wie bei normal gefütterten Tieren; es ist bemerkenswert, daß

selbst im Pigmentepithel von Tieren, deren innere Organe (Leber, Nebenniere) weder histologisch noch chemisch Vitamin A enthalten, der Leuchtstoff doch noch auftreten kann. Hier scheint sich also das Vitamin A am längsten zu halten. Immerhin fanden wir auch Fälle von Avitaminose A bei Ratten, bei denen der Leuchtstoff auch im Auge fast völlig geschwunden war.

6. Die von uns erhobenen Befunde lassen sich ohne große Schwierigkeiten mit der von *Wald*¹² aufgestellten Theorie über den Sehpurpurerfall über Sehgelb-Retinin zu Vitamin A vereinbaren.

7. Verschiedene Einzelheiten, wie das Verhalten des Auges im Verlauf der Dunkeladaptation, das Verhalten des belichteten und unbelichteten Auges nach Tötung des Tieres, Besonderheiten der Lumineszenz an der Ora serrata, werden besprochen.

Schrifttum.

- ¹ *Euler, v. u. Adler*: Ark. Kemi, Mineral. och Geol. 11 B, Nr 20 (1934). — ² *Grab*: Arch. exper. Path. 193, 170 (1939). — ³ *Holm*: Acta ophthalm. (Köbenh.) 7, 14 (1929) zit. nach *Karrer*. — ⁴ *Hosoya*: Pflügers Arch. 233, 57 (1934). — ⁵ *Jancsó u. Jancsó*: Biochem. Z. 287, 289 (1936). — ⁶ *Karrer*: Schweiz. med. Wschr. 1939 I, 113. — ⁷ *Krause u. Sidwell*: Amer. J. Physiol. 121, 215 (1938). — ⁸ *Querner*: Klin. Wschr. 1935 II, 1213. — ⁹ *Smith, Yudkin, Kriss and Zimmermann*: J. of Biol. Chem. 92 (1931) zit. nach *Karrer*. — ¹⁰ *Studnitz, v.*: Physiologie des Sehens. Leipzig 1940. — ¹¹ *Tunsley*: J. of Physiol. 71 (1935) zit. nach *v. Studnitz*. — ^{12a} *Wald*: Nature (Lond.) 132, 316 (1933). — ^{12b} *Wald*: Nature (Lond.) 136, 832 (1935). — ^{12c} *Wald*: J. gen. Physiol. 19, 351 (1935/36). — ^{12d} *Wald*: J. gen. Physiol. 21, 795 (1938). — ^{12e} *Wald and Clark*: J. gen. Physiol. 21, 93 (1938). — ¹³ *Schairer, Rechenberger, Gockel u. Patzelt*: Virchows Arch. 305, 360 (1939).