

Aus dem Institut für experimentelle Ophthalmologie  
und der Universitäts-Augenklinik Bonn  
(Direktor: Prof. Dr. H. K. MÜLLER).

## Über die Bedeutung von Kapsel und Epithel für die Phosphatresorption der Linse\*.

Von

O. KLEIFELD, H. K. MÜLLER, O. HOCKWIN, P. ARENS,  
R. FUCHS und U. DARDENNE.

Mit 3 Textabbildungen.

H. K. MÜLLER und O. KLEIFELD<sup>8</sup> konnten zeigen, daß die Resorption von anorganischem Phosphat in die Linse ein energiefordernder Vorgang ist, dessen Leistungsfähigkeit mit dem Altern<sup>9</sup> abnimmt. Sie sprechen die Vermutung aus, daß dem Kapsel-Epithelsystem für diese Phosphataufnahme eine besondere Bedeutung zukomme und daß die Phosphataufnahme in die Linse bei entferntem Kapsel-Epithelsystem auf andere Art vonstatten gehen müsse als in die intakte Linse.

Den Beweis der aktiven Aufnahme von Phosphat durch die Linse erbrachten sie durch die Verminderung der Resorption von markiertem Phosphat bei Einwirkung von fermenthemmenden Mitteln auf die Linsen. Es zeigte sich dabei, daß die durch fermenthemmende Mittel bedingte Verminderung der Phosphataufnahme mit einer Herabsetzung des Gehaltes an 7 min-hydrolysierbarem Phosphat einhergeht. Dieses 7 min-hydrolysierbare Phosphat besteht zum größten Teil aus der Adenosin-triphosphorsäure (ATP). Diese ist das beim Kohlenhydrat- und Fettabbau gewonnene Energieprodukt. Durch Abgabe eines oder zweier Phosphorsäuremoleküle liefert die ATP die Energie für in der Zelle vonstatten gehende energiefordernde Prozesse. Da die angewendeten fermenthemmenden Mittel zum Teil wie z. B. das KCN nicht direkt in Phosphorylierungsvorgänge eingreifen, sondern die Energiebildung einschränken, ist es wahrscheinlich, daß für die Aufnahme von Phosphat in die intakte Linse Energie erforderlich ist.

Auch ließ die von H. K. MÜLLER und O. KLEIFELD<sup>8</sup> gefundene altersbedingte Resorptionsverminderung von markiertem Phosphat, die mit einem herabgesetzten Gehalt an 7 min-hydrolysierbarem Phosphat in den Linsen alter Kaninchen einherging, eine enge Verbindung zwischen Phosphatresorption und ATP-Gehalt der Linse vermuten.

\* Die Arbeit wurde mit Hilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft ausgeführt. Frl. E. NOLL und Frl. U. LOB gaben technische Assistenz.

Um hierüber weitere Kenntnis zu erhalten, untersuchten wir die Abhängigkeit der  $^{32}\text{P}$ -Resorption vom Gehalt der Linsen an 7 min-hydrolysierbarem Phosphat.

*Methodik.*

Die Linsen von frisch getöteten Kaninchen wurden aus dem Auge herausgenommen, gewogen und 2 Std lang in einer  $^{32}\text{P}$ -haltigen Nährlösung bei  $37^\circ\text{C}$  aufbewahrt. Die von uns verwendete Nährlösung war nach Angaben von KINSEY<sup>7</sup> zusammengestellt. Sie enthielt folgende Substanzen:

464 cm <sup>3</sup> NaCl . . . . .	0,9%ig	4,8 cm <sup>3</sup> MgSO <sub>4</sub> . . . . .	3,82%ig
18,8 cm <sup>3</sup> KCl . . . . .	1,15%ig	98,0 cm <sup>3</sup> NaHCO <sub>3</sub> . . . . .	1,3%ig
9,2 cm <sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub> . . . . .	1,22%ig	4,0 cm <sup>3</sup> Glucose . . . . .	20%ig

Durch Zugabe genügender Mengen von CH<sub>3</sub>COOH wurde die Nährlösung auf ein p<sub>H</sub> von 7,2—7,4 eingestellt.

Nach Versuchsende wurden die Linsen mit eiskaltem Wasser abgespritzt und mit einem Glashomogenisator zerrieben. Ein Teil des Homogenates wurde feucht verascht, das Phosphat gefällt und die Radioaktivität des Niederschlages nach Filtrieren als Kartonpräparat unter dem Geiger-Müller-Zählrohr gemessen. Die für 1 g Linse erhaltenen Impulse je Minute werden in Prozenten der Impulse je Minute für 1 cm<sup>3</sup>  $^{32}\text{P}$  enthaltende Nährlüssigkeit ausgedrückt (prozentuale  $^{32}\text{P}$ -Resorption). Ein weiterer Teil des Linsenhomogenates wurde mit 10%iger Trichloressigsäure enteiweißt und im entweißten Extrakt die Bestimmung der einzelnen Phosphatfraktionen in Anlehnung an das Vorgehen von LOHMANN und JENDRASSIK<sup>6</sup> nach der Methode von FISKE und SUBBAROW vorgenommen. Bei dieser Methode wird durch Reduktion von Phosphorammoniummolybdat mit Monomethyl-p-Amidophenolsulfat (Metolreduktionsmittel) Molybdänblau gebildet, dessen Farbintensität im Photometer bei 578 m $\mu$  gemessen werden kann.

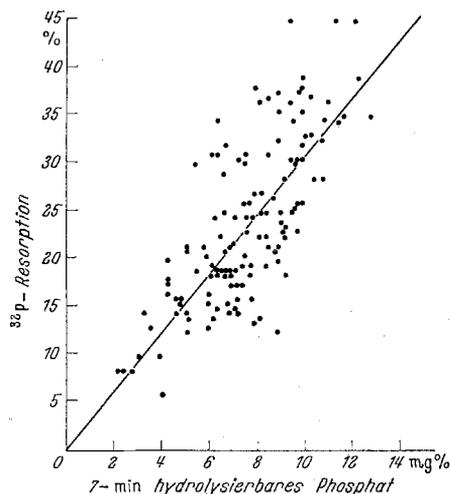


Abb. 1.  $^{32}\text{P}$ -Resorption in Kaninchenlinsen in Abhängigkeit von ihrem Gehalt an 7 min-hydrolysierbarem Phosphat.

phatfraktionen in Anlehnung an das Vorgehen von LOHMANN und JENDRASSIK<sup>6</sup> nach der Methode von FISKE und SUBBAROW vorgenommen. Bei dieser Methode wird durch Reduktion von Phosphorammoniummolybdat mit Monomethyl-p-Amidophenolsulfat (Metolreduktionsmittel) Molybdänblau gebildet, dessen Farbintensität im Photometer bei 578 m $\mu$  gemessen werden kann.

*Ergebnisse.*

Abb. 1 zeigt die  $^{32}\text{P}$ -Aufnahme in die Linsen von Kaninchen in Abhängigkeit des 7 min-hydrolysierbaren Phosphatgehaltes dieser Linsen. Es geht daraus hervor, daß eine direkte lineare Proportionalität von  $^{32}\text{P}$ -Resorption und Gehalt an 7 min-hydrolysierbarem Phosphat der Linse besteht, die nach KOLLER<sup>5</sup> mit einem Korrelationskoeffizienten  $r = 0,722$  variationsstatistisch gesichert ist.

Diese Proportionalität zwischen der Aufnahme von anorganischem Phosphat in die Linsen und ihrem 7 min-hydrolysierbarem Phosphatgehalt ist ein weiterer Hinweis für die aktive Phosphataufnahme in die Linse.

In einer weiteren Versuchsreihe untersuchten wir den Einfluß der Linsenkapsel auf die Aufnahmefähigkeit der Linse für  $^{32}\text{P}$ .

Durch die Untersuchungen von PIGNALOSA<sup>13</sup> und DISCHE<sup>1</sup> wissen wir, daß auch die Linsenkapsel einen Stoffwechsel besitzt. Es ist nun denkbar, daß Störungen dieses Linsenkapselstoffwechsels zu Permeabilitätsänderungen der Linsenkapsel führen können. Schon Untersuchungen von FRIEDENWALD<sup>4</sup> haben gezeigt, daß z. B. unter der Einwirkung von KCN auf die isolierte Linsenkapsel die Kapselpermeabilität sich ändern kann.

#### *Methodik.*

Unsere Versuche wurden mit Vorder- und Hinterkapseln von Rinderlinsen durchgeführt, die wir aus den Augen von Tieren entnahmen, die etwa 2 Std vorher im Schlachthof getötet worden waren. Dabei legten wir die Linsen entweder mit der Vorder- oder Hinterfläche auf einen Kapselhalter (FRIEDENWALD<sup>4</sup> und PAU<sup>12</sup>) und durchtrennten die Kapsel mit der Schere an der der Auflagefläche entgegengesetzten Seite. Mit 2 Pinzetten zogen wir die Kapsel von allen Seiten gleichmäßig auf den Kapselhalter auf und befestigten sie mit einem Zwirnfaden, nachdem sie vorher angespannt worden war. Linsenfaserückstände wurden sehr vorsichtig mit einem Daviel-Spatel entfernt. In Kontrollversuchen wurden unter dem Phasenkontrastmikroskop festgestellt, daß der zu untersuchenden Kapsel das Epithel noch anhaftete, wobei aber meist auch noch ganz geringe Linsenfaserreste an einzelnen Stellen der Kapsel insbesondere im Bereich des Äquators zu erkennen waren. Nach dem Aufspannen der Kapsel drehten wir den Kapselhalter um, gaben 1 cm<sup>3</sup> einer  $^{32}\text{P}$ -enthaltenden Nährlösung (aktive Nährlösung) in den mit der Kapsel unten abgeschlossenen Halter (die Kapselaußenfläche zeigte immer zum Halterlumen) und brachten diesen dann vorsichtig in eine Mensur, in der sich 3 cm<sup>3</sup> einer inaktiven Testlösung (= Nährlösung ohne  $^{32}\text{P}$ ) befanden. Diese Versuchsanordnung blieb für 1 bzw. 2 Std bei einer Temperatur von 37° C im Brutschrank. Nach Versuchsende wurden sowohl von der aktiven Nährlösung als auch von der Testlösung 0,1 cm<sup>3</sup> mit Aqua dest. auf 1 cm<sup>3</sup> aufgefüllt, naß verascht und radiometrisch mit dem Geiger-Müller-Zählrohr gemessen. Als Fermentgifte setzten wir KCN, CH<sub>2</sub>JCOONa und NaF in Konzentrationen von 1:1000 der aktiven Nährlösung zu. Das p<sub>H</sub> der Lösungen lag bei 7,4. Einen Defekt in der als Membran gespannten Kapsel konnten wir sofort an Niveauverschiebungen der Testlösung und Nährlösung erkennen.

#### *Versuchsergebnisse.*

Wie Tabelle 1 zeigt, fanden wir sowohl an isolierten Vorder- als auch Hinterkapseln von Rinderlinsenpaaren bei Zusatz von KCN eine gesteigerte Durchlässigkeit für  $^{32}\text{P}$  gegenüber den Kontrollversuchen. Für CH<sub>2</sub>JCOONa und NaF gilt bezüglich der Vorderkapsel wahrscheinlich das gleiche. Die durch KCN bedingte Permeabilitätssteigerung kann nicht allein auf einer KCN-Beeinflussung des Linsenepithels beruhen,

Tabelle 1. *Kapseln von Geschwisterlinsen von Rindern wurden als Membran zwischen eine  $^{32}\text{P}$ -haltige Nährlösung und eine zu Versuchsbeginn  $^{32}\text{P}$ -freie Nährlösung (= Testlösung) gespannt.*

Nach 2 Std Versuchsdauer wurden die Impulse der Lösungen gemessen.

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Anzahl der Versuche	Mittleres Gewicht der Linsen g	Kapselart	Zusatz von Fermentgiften	$^{32}\text{P}$ -Gehalt * %	Mittleres Gewicht der Linsen g	Kapselart	Zusatz von Fermentgiften	$^{32}\text{P}$ -Gehalt * %
9	2,094	V	—	$12,5 \pm 2,22$	2,088	V	KCN	$32,3 \pm 3,03$
5	2,234	H	—	$22,6 \pm 2,73$	2,220	H	KCN	$40,2 \pm 3,24$
10	2,239	V	—	$12,0 \pm 1,19$	2,250	V	$\text{CH}_3\text{JCOONa}$	$16,0 \pm 1,40$
10	2,118	V	—	$14,2 \pm 1,44$	2,149	V	NaF	$18,0 \pm 3,26$

\* Der  $^{32}\text{P}$ -Gehalt der Testlösung ist in Prozenten des  $^{32}\text{P}$ -Gehaltes der Nährlösung angegeben. V Vorderkapsel; H Hinterkapsel.

denn wir finden sie sowohl an der Vorder- als auch an der Hinterkapsel. Ob die permeabilitätserhöhende Wirkung der Fermentgifte auf einer Beeinflussung des Stoffwechsels der Linsenkapsel selbst oder auf einer direkten chemischen Wirkung auf Substanzen, die eine Erhöhung der Kapselpermeabilität bewirken könnten, beruht, wissen wir nicht. Für das KCN wäre z. B. nach DISCHE<sup>2</sup> eine Umwandlung von eiweißgebundenem Cystin in Cystein denkbar und auf diese Weise eine Permeabilitätsänderung erklärbar. Sicher ist jedenfalls, daß KCN und wahrscheinlich auch Monojodessigsäure, die an der ganzen Linse eine Verminderung der  $^{32}\text{P}$ -Aufnahme bewirken, an der isolierten Kapsel eine vermehrte Durchlässigkeit für  $^{32}\text{P}$  hervorrufen.

Dem Vorgehen von PALM<sup>11</sup> entsprechend, untersuchten wir in der nächsten Versuchsreihe die Aufnahme von  $^{32}\text{P}$  in die Linse durch die vordere und durch die hintere Linsenkapsel.

#### Methodik.

Die Linsen von frisch getöteten Kaninchen und Kälbern wurden aus dem Auge herausgenommen, gewogen und mit ihrer Vorder- bzw. Hinterfläche, wie in Abb. 2 angegeben, auf einen Standzylinder aufgesetzt. Der Standzylinder enthielt etwa  $1 \text{ cm}^3$   $^{32}\text{P}$ -haltige Nährlösung, bei Verwendung von Fermentgiften wurden diese in einer Konzentration von 1:1000 zugesetzt. Der Zylinder wurde in eine feuchte Kammer gestellt. Die Linsenvorderfläche bzw. -hinterfläche stand so 2 Std lang im Brutschrank bei  $37^\circ \text{C}$  mit der  $^{32}\text{P}$ -haltigen Nährlösung in Berührung. Danach wurden Linse und Nährflüssigkeit, wie bereits beschrieben, aufgearbeitet. Um ein eventuelles Wandern der Nährflüssigkeit an der Außenfläche der Linse erkennen zu können, legten wir einen Filtrierpapierstreifen auf die der Auflagefläche entgegengesetzte Seite der Linse. Nach Versuchsende war der Streifen weder angefeuchtet, noch ließ sich in ihm Radioaktivität nachweisen.

*Versuchsergebnisse.*

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, trat wahrscheinlich bei diesen Versuchen durch die Vorderfläche der Kaninchenlinse mehr Phosphat in die Linse ein als durch die Hinterfläche. Mit PALM<sup>10</sup> sind wir der Ansicht, daß das Ergebnis derartiger Versuche mit Zurückhaltung beurteilt werden muß, weil bei Kaninchenlinsen die Größe der Auflagefläche nicht genügend genau bestimmbar ist.

Bei den Kälberlinsen bestehen aber unter den gewählten Versuchsbedingungen wahrscheinlich keine Unterschiede in der Größe der Berührungsflächen zwischen Linse und Nährlösung bei Auflage des vorderen oder hinteren Poles auf den Standzylinder. Möglicherweise finden wir deshalb, wie Tabelle 2 zeigt, keinen Unterschied der <sup>32</sup>P-Resorption durch die vordere und hintere Oberfläche der Kälberlinse.

Durch Zusatz von KCN konnte bei der Kaninchenlinse sowohl die Resorption durch die Vorder- als auch durch die Hinterfläche gehemmt werden. Die Hemmung war, wie die Tabellen 3 und 4 zeigen, beim Eintritt des Phosphates durch die Vorderfläche etwas stärker als bei der Resorption durch die Hinterfläche. Für die Kälberlinse fanden sich ähnliche Unterschiede. Jedoch sind bei der Kälberlinse die Differenzen im Vergleich zur Fehlergröße zu gering, um eine bestimmte Aussage machen zu können. Um auszuschließen, daß das durch die Hinterfläche aufgenommene <sup>32</sup>P in der Linse zum

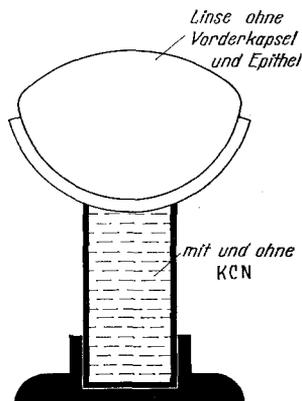


Abb. 2. Hintere Oberfläche einer Kaninchenlinse in Berührung mit der Nährlösung.

Tabelle 2. Prozentuale <sup>32</sup>P-Aufnahme in Geschwisterlinsen von Kaninchen und Kälbern, deren Linsenvorder- bzw. Linsenhinterflächen 2 Std lang mit der Nährlösung in Berührung standen.

Vorderfläche der Linse aufgelegt				Hinterfläche der Linse aufgelegt		
I	II	III	IV	V	VI	VII
Anzahl der Versuche	Tierart	Mittleres Gewicht der Linsen g	<sup>32</sup> P-Resorption* %	Mittleres Gewicht der Linsen g	<sup>32</sup> P-Resorption* %	Mittelwert der prozentualen Differenzen
6	Kaninchen	0,405	10,3 ± 2,02	0,407	6,0 ± 1,05	+ 80,4 ± 18,0
6	Kälber	1,012	1,1	1,013	1,2	

\* Die <sup>32</sup>P-Resorption ist in Prozenten der Impulszahlen je Minute für 1 g Linse zu den Impulszahlen je Minute für 1 cm<sup>3</sup> Nährlösung angegeben. In Stab VII ist der Mittelwert der prozentualen Differenzen von Stab IV zu Stab VI bezogen auf Stab VI angegeben.

Tabelle 3. *Prozentuale  $^{32}\text{P}$ -Aufnahme in Geschwisterlinsen von Kaninchen und Kälbern, deren Linsen Vorderflächen 2 Std lang mit einer Nährlösung mit und ohne Zusatz von KCN in Berührung standen.*

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Anzahl der Versuche	Tierart	Mittleres Gewicht der Linsen g	Zusatz von Fermentgiften	$^{32}\text{P}$ -Resorption * %	Mittleres Gewicht der Linsen g	Zusatz von Fermentgiften	$^{32}\text{P}$ -Resorption * %
3	Kaninchen	0,312	—	$3,5 \pm 0,25$	0,313	KCN	$1,2 \pm 0,3$
11	Kälber	1,039	—	$1,4 \pm 0,07$	1,039	KCN	$0,8 \pm 0,09$

\* Die  $^{32}\text{P}$ -Resorption ist in Prozenten der Impulszahlen je Minute für 1 g Linse zu den Impulszahlen je Minute von 1 cm<sup>3</sup> Nährlösung angegeben.

Tabelle 4. *Prozentuale  $^{32}\text{P}$ -Aufnahme in Geschwisterlinsen von Kaninchen und Kälbern, deren Linsen Hinterflächen 2 Std lang mit einer Nährlösung mit und ohne Zusatz von KCN in Berührung standen.*

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Anzahl der Versuche	Tierart	Mittleres Gewicht der Linsen g	Zusatz von Fermentgiften	$^{32}\text{P}$ -Resorption * %	Mittleres Gewicht der Linsen g	Zusatz von Fermentgiften	$^{32}\text{P}$ -Resorption * %
8	Kaninchen	0,297	—	$2,8 \pm 0,11$	0,297	KCN	$1,9 \pm 0,13$
4	Kälber	0,970	—	$2,0 \pm 0,1$	0,970	KCN	$1,1 \pm 0,2$

\* Die  $^{32}\text{P}$ -Resorption ist in Prozenten der Impulszahlen je Minute für 1 g Linse zu den Impulszahlen je Minute für 1 cm<sup>3</sup> Nährlösung angegeben.

Äquator aufsteigt und erst dort in die organischen Phosphatfraktionen eingebaut wird, untersuchten wir die  $^{32}\text{P}$ -Aufnahme an Linsen, denen die vordere Kapsel bis über den Äquator hinaus entfernt worden war.

#### Methodik.

An den aus den Augen von Kaninchen entnommenen Linsen wurde etwa 1 mm unter dem Äquator an der Linsenrückfläche ein zirkulärer Schnitt geführt, die Vorderkapsel mit dem anhaftenden Epithel abgezogen und dann die Linsenrückfläche, wie bereits beschrieben, auf einen Standzylinder aufgesetzt. Die entfernte Vorderkapsel wurde unter dem Phasenkontrastmikroskop auf die Vollständigkeit des anhaftenden Epithels untersucht.

In einigen Fällen wurde die Linse nach Versuchsende mit Kohlensäureschnee gefroren und dann in einzelne Teile zerlegt. Wie in Abb. 3 dargestellt, wurde mit einem Hohlbohrer ein axialer Zylinder ausgestochen, der mit einem Messer in einen vorderen und einen hinteren Abschnitt zerteilt wurde. Die entstandenen drei Linsenteile wurden danach der chemischen Analyse zugeführt.

#### Versuchsergebnisse.

Tabelle 5 zeigt, daß nur geringe Unterschiede zwischen den Linsen mit und ohne Vorderkapsel bezüglich der Phosphataufnahme bestehen.

Es spricht dies dafür, daß die Phosphataufnahme durch die Hinterfläche der Linse zum Teil von der Funktion des Linsenepithels unabhängig ist.

Wurde der Nährflüssigkeit der Linsen, die keine Vorderkapsel und kein Epithel mehr hatten, KCN zugesetzt und kamen diese Linsen nur im Bereich ihrer Hinterfläche mit der Nährflüssigkeit in Berührung, dann kam es, wie Tabelle 6 zeigt, zu einer verminderten Aufnahme von  $^{32}\text{P}$  in den hinteren Linsenteil. Es ist also der Eintritt von  $^{32}\text{P}$  durch die hintere Kapsel in die Linsenfasernicht nur unabhängig von der Funktion des Linsenepithels, sondern er ist auch durch KCN beeinflussbar.

Grundsätzlich andere Verhältnisse, wie schon eingangs erwähnt, liegen vor, wenn man die Phosphataufnahme in die entkapselte Linse untersucht.

*Methodik.*

Die aus dem Auge herausgenommene Linse wird mit einer feinen spitzen Schere am Äquator angeschnitten und die Kapsel mit zwei feinen chirurgischen Pinzetten am Äquator entlang abgezogen. Die so entkapselten Linsen wurden, wie bereits beschrieben, in eine  $^{32}\text{P}$ -haltige Nährlösung eingebracht. Die Versuchsdauer variierte von 5—120 min.

*Versuchsergebnisse.*

Aus Tabelle 7 geht hervor, daß die entkapselte Linse in den ersten 10 min mehr radioaktives Phosphat aufnimmt als die intakte Linse. Bei 20 min langem Aufenthalt der Linsen in der Nährlösung ist die Phosphataufnahme zwischen intakter und entkapselter Linse annähernd gleich, und bei längeren Aufenthaltszeiten findet man in der entkapselten Linse weniger markiertes Phosphat als in der intakten.

Daß in den entkapselten Linsen nach einer längeren Aufenthaltszeit in der Nährlösung (z. B. 2 Std) nicht mehr markiertes Phosphat als

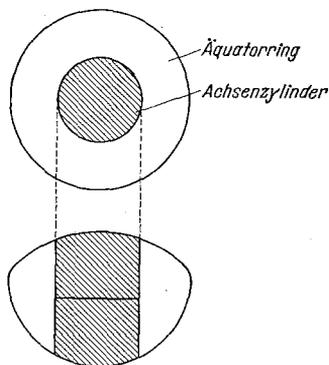


Abb. 3. Aufteilung der Linse mit Hilfe eines Hohlbohrers. Die verschiedenen Teile der Linse sind in Seiten- und Aufsicht gezeigt.

Tabelle 5. Prozentuale  $^{32}\text{P}$ -Aufnahme in Geschwisterlinsen von Kaninchen.

Der einen Linse wurde vor Versuchsbeginn Vorderkapsel und Epithel abgezogen. Die Linsen-hinterflächen standen 2 Std lang mit einer Nährlösung in Berührung.

Intakte Linsen			Linsen ohne Vorderkapsel und Epithel	
I	II	III	IV	V
Anzahl der Versuche	Mittleres Gewicht der Linsen g	$^{32}\text{P}$ -Resorption* %	Mittleres Gewicht der Linsen g	$^{32}\text{P}$ -Resorption* %
8	0,334	$2,8 \pm 0,19$	0,334	$2,5 \pm 0,13$

\* Die  $^{32}\text{P}$ -Resorption ist in Prozenten der Impulszahlen je Minute für 1 g Linse zu den Impulszahlen je Minute für 1 cm<sup>3</sup> Nährlösung angegeben.

Tabelle 6. *Prozentuale <sup>32</sup>P-Aufnahme des ausgestanzten hinteren Linsenteiles von Geschwisterlinsen von Kaninchen, deren Linsen hinterflächen nach Entfernung von Vorderkapsel und Epithel 2 Std lang mit einer Nährlösung mit und ohne Zusatz von KCN in Berührung standen.*

I	II	III	IV	V	VI	VII
Anzahl der Versuche	Zusatz von Fermentgiften	Mittleres Gewicht der hinteren Linsenteile g	<sup>32</sup> P-Resorption * %	Mittleres Gewicht der hinteren Linsenteile g	Zusatz von Fermentgiften	<sup>32</sup> P-Resorption * %
8	—	0,071	7,2 ± 1,3	0,070	KCN	4,1 ± 0,7

\* Die <sup>32</sup>P-Resorption ist in Prozenten des <sup>32</sup>P-Gehaltes von 1 g Linse zu dem <sup>32</sup>P-Gehalt von 1 cm<sup>3</sup> Nährlösung angegeben.

nach 20 min Aufenthalt nachgewiesen werden konnte, könnte darauf beruhen, daß sich bei der entkapselten Linse die obersten Linsenfaser-schichten allmählich ablösen und damit ihr <sup>32</sup>P-Gehalt nicht erfaßt wird.

Tabelle 7. *Prozentuale <sup>32</sup>P-Aufnahme intakter und entkapselter Geschwisterlinsen von Kaninchen nach 5—120-minütigem Aufenthalt in der Nährlösung.*

Intakte Linsen			Linsen ohne Kapsel		VI
I	II	III	IV	V	
Dauer der Aufbewahrung in der Nährlösung	Linsengewicht g	<sup>32</sup> P-Resorption * %	Linsengewicht g	<sup>32</sup> P-Resorption * %	Differenz der <sup>32</sup> P-Resorption von Stab V zu Stab III in %
5'	0,325	0,4	0,324	5,1	+ 1170,0
10'	0,293	1,7	0,292	7,7	+ 351,0
20'	0,276	6,2	0,277	5,3	- 14,5
40'	0,286	11,4	0,287	5,5	- 51,2
80'	0,272	28,3	0,274	5,2	- 81,6
120'	0,280	48,5	0,280	4,1	- 91,4

\* Die <sup>32</sup>P-Resorption ist in Prozenten der Impulszahlen je Minute für 1 g Linse zu den Impulszahlen je Minute für 1 cm<sup>3</sup> Nährlösung angegeben.

man kann, wie Tabelle 8 zeigt, das Eindringen von <sup>32</sup>P in die entkapselte Linse weder durch KCN noch durch Monojodessigsäure beeinflussen. Es ist daher wahrscheinlich, daß das anorganische Phosphat auf dem Wege der Diffusion in die der Kapsel und des Epithels beraubten Linsenfaser n eindringt.

Vergleiche zwischen der Phosphataufnahme in die intakte und in die entkapselte Linse können also wahrscheinlich nur bei einer Aufenthaltsdauer der Linsen von weniger als 20 min gezogen werden. Wir dürfen also feststellen, daß die entkapselte Linse in den ersten 10 min mehr Phosphat aufnimmt als die intakte Linse.

Bei dieser Phosphataufnahme in die entkapselte Linse spielt die aktive Resorption, wenn überhaupt, nur eine unbedeutende Rolle, denn

Wir haben gefunden, daß KCN die isolierte Linsenkapsel für  $^{32}\text{P}$  durchlässiger werden läßt, daß KCN die Aufnahme von  $^{32}\text{P}$  in die der Kapsel beraubten Linsenfasern nicht beeinflusst, daß KCN die  $^{32}\text{P}$ -Resorption durch die hintere Kapsel in die Linsenfasern hemmt. Diese Hemmung muß durch Störung von Stoffwechselforganen hervorgerufen sein, die im Zusammenspiel des Stoffwechsels der Linsenfasern und der Linsenkapsel zustande kommen.

#### Diskussion.

Die Aufnahme von anorganischem Phosphat als  $\text{PO}_4$ -Ion in die intakte Linse ist also eine aktive Leistung der Linse, wobei es vor allem auf die Zusammenarbeit der einzelnen Systeme der Linse (Kapsel-Linsenfasern und möglicherweise auch Linsenepithel) ankommt. Für diese Aufnahme von Phosphat in die Linse wird Energie benötigt.

Fehlt diese Energie, so kommt es zu Störungen der Resorption und somit zu einem Mangel an lebensnotwendigen Stoffen in der Linse. Konnte doch H. K. MÜLLER schon vor Jahren nachweisen, daß auch die Aufnahme von Zucker und Vitamin C in die Linse von fermentativen Prozessen abhängig ist, und eigene Versuche zeigten uns, daß die Zuckeraufnahme in die Linse durch Cyanid hemmbar ist. Störungen des Aufnahmevermögens der Linse sind also neben anderem denkbar 1. durch primäre Schädigung der Kapsel, wobei die Art der Schädigung der Kapsel von uns nicht diskutiert werden soll, 2. durch Störungen des Energiestoffwechsels der Linse oder 3. durch Störungen im Zusammenwirken des Kapsel-Linsenfasersystems. Es ist sehr wahrscheinlich, daß jede einzelne dieser Störungen zu Permeabilitätsveränderungen Anlaß geben kann, sobald sie ein gewisses Maß erreicht hat.

Tabelle 8. Prozentuale  $^{32}\text{P}$ -Aufnahme entkapselter Geschwisterlinsen von Kaninchen nach Aufenthalt in einer Nährlösung mit und ohne Zusatz von Fermentgiften.

I	II	III	IV	V	VI
Dauer der Aufbewahrung in der Nährlösung	Linsengewicht g	$^{32}\text{P}$ -Resorption* %	Zusatz zur Nährlösung	Linsengewicht g	$^{32}\text{P}$ -Resorption* %
5'	0,322	4,2	KCN	0,322	4,2
10'	0,344	6,1	KCN	0,342	6,9
20'	0,338	10,5	KCN	0,346	9,8
5'	0,350	5,5	$\text{CH}_2\text{JCOONa}$	0,350	5,7
15'	0,338	9,4	$\text{CH}_2\text{JCOONa}$	0,336	9,4

\* Die  $^{32}\text{P}$ -Resorption ist in Prozenten der Impulszahlen je Minute für 1 g Linse zu den Impulszahlen je Minute von 1  $\text{cm}^3$  Nährlösung angegeben.

#### Zusammenfassung.

In einer vorhergehenden Arbeit war gezeigt worden, daß die Aufnahme von anorganischem Phosphat in die Linse mit fermenthemmenden Mitteln ( $\text{KCN}$ ,  $\text{CH}_2\text{JCOONa}$ ,  $\text{NaF}$ ) gehemmt werden kann und die

alternde Linse weniger  $^{32}\text{P}$  aufnimmt als die jugendliche. Aus den Versuchen wurde der Schluß gezogen, daß die Aufnahme von anorganischem Phosphat in die Linse auf einer aktiven, energiefordernden Leistung der Linse beruht. In der jetzigen Arbeit wird gezeigt, daß die  $^{32}\text{P}$ -Aufnahme in die Linse in Abhängigkeit von dem Gehalt an 7 min-hydrolysierbarem Phosphat, das zum größten Teil aus der ATP besteht, erfolgt.

Isolierte Vorder- und Hinterkapseln von Rindern werden bei Zugabe von KCN für  $^{32}\text{P}$  durchlässiger.

Bei Kälberlinsen ist die  $^{32}\text{P}$ -Aufnahme in die ganze Linse über Vorder- und Hinterkapsel gleich.

KCN hemmt die  $^{32}\text{P}$ -Aufnahme, gleichgültig, ob das  $^{32}\text{P}$  über die Vorder- oder über die Hinterkapsel angeboten wird.

Die Resorption von  $^{32}\text{P}$  durch die Hinterfläche ist bei Linsen mit und ohne Vorderkapsel und Epithel gleich.

KCN hemmt die  $^{32}\text{P}$ -Aufnahme über die Hinterfläche auch bei entfernter Vorderkapsel.

Linsen ohne Kapsel und Epithel nehmen in den ersten Minuten nach Eintauchen in eine  $^{32}\text{P}$  enthaltende Nährlösung mehr  $^{32}\text{P}$  auf als die intakte Linse. Nach etwa 20 min zeigen entkapselte und intakte Linsen gleich viel  $^{32}\text{P}$ . Nach dieser Zeit enthält die entkapselte Linse weniger  $^{32}\text{P}$  als die intakte. Fermenthemmende Mittel hemmen die Aufnahme von  $^{32}\text{P}$  in die entkapselte Linse nicht.

Die aktive Aufnahme des Phosphates in die intakte Linse ist eine gemeinsame Leistung der Kapsel und Linsenfasern und für die Vorderfläche wahrscheinlich auch des Epithels.

### Literatur.

- <sup>1</sup> DISCHE, Z., G. EHRlich, C. MUNOZ and L. v. SALLMANN: Amer. J. Ophthalm. **36** (II), 54 (1953). — <sup>2</sup> DISCHE, Z.: Persönliche Mitteilung. — <sup>3</sup> FISKE, C. H., and Y. SUBBAROW: J. of Biol. Chem. **66**, 375 (1925). — <sup>4</sup> FRIEDENWALD, J. S.: Arch. of Ophthalm. **3**, 182 (1930). — <sup>5</sup> KOLLER, S.: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1940. — <sup>6</sup> LOHMANN, K., u. L. JENDRASSIK: Biochem. Z. **178**, 419 (1926). — <sup>7</sup> MERRIAM, F. C., and V. E. KINSEY: Arch. of Ophthalm. **43**, 979 (1950). — <sup>8</sup> MÜLLER, H. K., u. O. KLEIFELD: Ber. dtsh. ophthalm. Ges. **58**, 214 (1953). — <sup>9</sup> MÜLLER, H. K., u. O. KLEIFELD: Graefes Arch. **153**, 177 (1952). — <sup>10</sup> PALM, E.: Acta ophthalm. (Københ.) **32**, 49 (1954). — <sup>11</sup> PALM, E.: Acta ophthalm. (Københ.) Suppl. **32** (1948). — <sup>12</sup> PAU, H.: Ber. dtsh. ophthalm. Ges. **56**, 240 (1950). — <sup>13</sup> PIGNALOSA, G.: Boll. Ocul. **18**, 646 (1939a).

Prof. Dr. H. K. MÜLLER, Universitäts-Augenklinik Bonn.