

(Aus der Universitäts-Augenklinik Göttingen. — Direktor: Geh. Med.-Rat
Prof. Dr. E. v. Hippel.)

Studien über die Glaskörper-Fadensubstanz.

Von

Prof. M. Baurmann,
Oberarzt der Univ.-Augenklinik.

Mit 9 Textabbildungen.

Die nachfolgend mitgeteilten Untersuchungen sind veranlaßt durch eine Arbeit von *Goedbloed*¹, in der der Autor zu einer von meiner eigenen stark abweichenden Auffassung von der Natur des Glaskörpers kommt. Kurz zusammengefaßt sind die Ergebnisse von *Goedbloed* folgende:

1. Die Glaskörperfäden stellen für sich ein selbständiges Gel dar, das unabhängig von der Glaskörperflüssigkeit im Glaskörper enthalten ist. Der Hydratationszustand dieser Fäden ist durch Salze der bekannten Anionenreihe beeinflussbar. Eine Änderung der Hydratation der Fäden kommt zum Ausdruck in einer mehr oder weniger scharfen Begrenzung der Fäden im ultramikroskopischen Bild.

2. Die von *Baurmann* gegebene Glaskörperquellungskurve in Abhängigkeit von der H-Ionenkonzentration wurde von *Baurmann* falsch gedeutet. Im sauren Milieu werden die Fäden nicht zu einer körnigen Substanz abgebaut, sondern sie werden von einer körnigen Ausflockung aus der interfibrillären Flüssigkeit überdeckt. Die ausgefällte Substanz dürfte das Mucoprotein sein.

3. Die ultramikroskopischen Glaskörperfäden und die in den Maschen vorhandene Flüssigkeit sind nicht zusammengehörige Teile eines Gels, denn dieses System kann sein Volumen nicht aufrechterhalten und hat kein Quellungsvermögen. Wird die Festigkeit des Fadenskeletes durch chemische Agenzien verletzt, so verliert der Glaskörper sein Wasser, das Skelet sinkt zusammen. Dieser Vorgang ist nicht reversibel.

4. Die Glaskörpergrenzlage, die vom übrigen Glaskörper nicht abgrenzbar ist, aber durch eine dichtere Lagerung der Fäden ausgezeichnet ist, hat die Eigenschaften einer semipermeablen Membran, die das Mucoprotein zurückhält.

5. Der Tonus des Glaskörpers ist so groß, daß er einen Druck von 20—30 mm Hg — das ist der auf der Glaskörpergrenzlage lastende Intraokulardruck — zu tragen vermag.

6. Die zunächst *Goedbloed* selbst sich aufdrängende Vorstellung, daß dieser Tonus hervorgebracht werde durch den osmotischen Druck des nur auf der Glaskörperseite vorhandenen Mucoproteins hat sich nicht bestätigt, da bei osmotischen Druckmessungen zwischen KW. und Glas-

¹ Over de Structuur en den Tonus van het Corpus vitreum. Leiden 1932.

körperflüssigkeit unter Zuhilfenahme von Cellophan als semipermeable Membran eine osmotische Druckdifferenz zwischen diesen beiden Flüssigkeiten nicht feststellbar war.

7. Der Glaskörpertonus kommt dadurch zustande, daß Glaskörperflüssigkeit im Ciliarkörper dauernd produziert wird und in diesem Bezirk, in dem das Glaskörpergerüst eine feste anatomische Verbindung mit dem Ciliarepithel aufweist, in das Glaskörpermaschensystem eintritt. Der Übertritt dieser Flüssigkeit, insbesondere in die hintere Kammer, wird durch die dichte Fadenlagerung an der vorderen Glaskörpergrenze

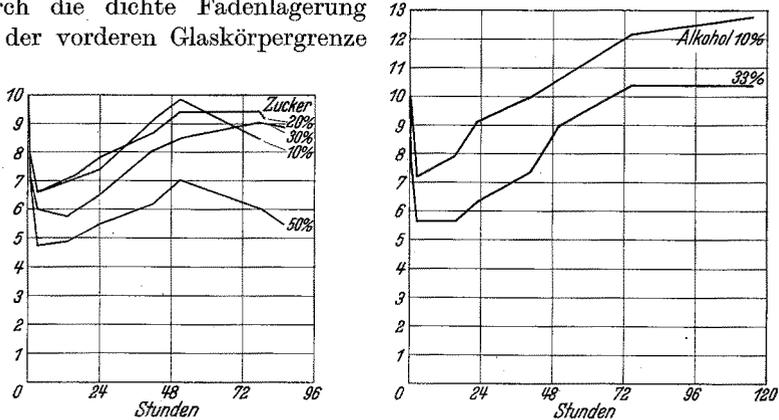


Abb. 1.

gebremst, so daß dort eine Aufstauung der Flüssigkeit erfolgt. Diese Aufstauung der Flüssigkeit bedingt den Tonus des Glaskörpers.

Die Arbeit von *Goedbloed* hat mich veranlaßt, meine Resultate nachzuprüfen und meine Untersuchungen zu erweitern. Im Verlaufe der Erörterungen wird sich Gelegenheit finden, zu den Ergebnissen von *Goedbloed* Stellung zu nehmen. Die gesamten Versuche wurden angestellt mit Glaskörpermaterial von 2—3jährigen Rindern. Die Verarbeitung des Materials erfolgte jeweils 2—6 Stunden nach der Schlachtung der Tiere.

Ich bin zunächst ausgegangen von der Angabe *Goedbloeds*, daß der Glaskörper gar nicht quellbar sei und daß ein einmal stattgehabter Wasserverlust nicht reversibel sei, da es sich eben einfach um ein Ausfließen von Flüssigkeit aus dem Maschensystem handele. Ich stellte zunächst folgende orientierende Versuche an: Es wurde jeweils die Hälfte eines Rinderglaskörpers (d. h. etwa $7\frac{1}{2}$ ccm) in je 200 ccm einer hypertonen Rohrzucker- oder Alkohollösung übertragen. Die danach auftretende Volumbewegung des Glaskörperstückes wurde durch Messung in anfangs kurzen ($\frac{1}{2}$ —1stündigen) später größeren (12—36stündigen) Intervallen bestimmt. Die Volummessung erfolgte durch vorsichtiges Herausheben des Glaskörperstückes und Übertragen in einen Meßzylinder. Die Resultate sind graphisch dargestellt in Abb. 1.

Übereinstimmend fand sich zunächst ein starker Volumsturz, der um so größer war, je stärker hypertonisch die Milieuflüssigkeit war. Daran anschließend (meist etwa mit der dritten Stunde beginnend) erfolgte ein langsamer Wiederanstieg des Volums, der bei der Zuckerlösung meist bis zu 90% und mehr des Ausgangsvolums führte und bei Verwendung von Alkohol einmal um ein Geringes und einmal ganz erheblich über das Ausgangsvolum hinausführte. Die Erklärung für den Gang der Kurven dürfte wohl diese sein, daß der primäre Volumverlust als eine Initialosmose aufzufassen sei, die solange mit einer Abwärtsbewegung des Glaskörpervolums verläuft, als nicht durch Einwanderung von Zucker- bzw. Alkoholmolekülen (unter gleichzeitiger Abwanderung der im Glaskörper vorhandenen Salze) osmotischer Druckausgleich erzielt ist. Die darauffolgende Wiederauffüllung des Volums dürfte im wesentlichen eine selbständige Quellung des Glaskörpers sein. Die Absicht bei diesen Versuchen war es einerseits, eine Entquellung des Glaskörpers zu erzielen, möglichst ohne grobe mechanische Schädigung des Fadengefüges und ohne Verschiebung der H-Ionenkonzentration ins isoelektrische Gebiet und andererseits, eine freie Quellung zu ermöglichen, die nicht durch hydrostatische Druckunterschiede gehemmt würde. Daß bei der Wiederaufquellung des Glaskörpers nicht etwa eine besondere Membraneigenschaft der Glaskörpergrenzschicht im Spiele gewesen ist, wie sie *Goedbloed* als möglich diskutiert, geht daraus hervor, daß ich jeweils mit einem halbierten Glaskörper experimentierte. Von einigem Interesse ist die Tatsache, daß bei dem Versuch mit 10%igem Alkohol als Milieuflüssigkeit das Ausgangsvolum erheblich überschritten wurde. (Die Deutung dieses Befundes ergibt sich aus den unten folgenden Erörterungen über den Faktor γ). Diese Versuche haben im übrigen nur den Wert einer ersten Orientierung zu der Behauptung von *Goedbloed*, daß Glaskörper, der einen Teil seiner Flüssigkeit verloren habe, diese durch Quellung nicht wiedergewinnen könne. *Goedbloed* belegt diese Ansicht mit der Beobachtung, daß ein aus dem Auge herauspräparierter Glaskörper Flüssigkeit verliere und daß immer wiederholte Volummessungen dieses Glaskörpers eine fortschreitende Volumabnahme zeige. Demgegenüber ist folgendes zu sagen: Wenn ein auf eine mehr oder weniger flache Unterlage gelegter Glaskörper keine Flüssigkeit verlieren sollte, so müßte der Glaskörper einen Quellungsdruck von wenigstens etwa 10 mm Wasser (das ist die Niveaudifferenz zwischen der Unterlage und der oberen Kuppe des Glaskörpers) besitzen. Tatsächlich aber ist der Quellungsdruck des Glaskörpers, wie Messungen sowohl von mir wie von *Duke Elder* ergeben haben, wesentlich geringer (ich fand ihn zu rund 1 mm Wasser). Wenn also der Glaskörper unter den von *Goedbloed* angegebenen Bedingungen Flüssigkeit verliert, so beweist das keineswegs, daß der Glaskörper *keinen* Quellungsdruck besitze und nicht quellbar sei.

Bei den nachfolgenden Untersuchungen lag mir nun im wesentlichen daran, zu prüfen, ob meine Ansicht, daß die Glaskörperfäden die gelbildende Substanz der Glaskörpergallerte seien und daß Glaskörpervolum und Konsistenz im wesentlichen durch diese Fadensubstanz bedingt seien, zu Recht bestehe.

Ich habe daher meine früheren Quellungsversuche wiederholt, aber nunmehr ausgehend von der reinen Fadensubstanz.

Um diese zu gewinnen, wurde jeweils der Glaskörper unter einem Druck von 1 Atm. (Wasserstrahlpumpe) auf einem Ultrafiltriergerät (Filterplatte 6 cm Durchmesser) unter Verwendung von Membranfilter „mittel“ abfiltriert. Die Filter sind für Eiweiß durchgängig, doch wird die Fadensubstanz des Glaskörpers infolge der Länge der Fäden auf dem Filter zurückgehalten. Die zurückgebliebene Substanz wird mit destilliertem Wasser dreimal nachgewaschen. Im Filtrat ist regelmäßig Mucin reichlich nachweisbar. Im dritten Washwasser habe ich niemals mehr Mucin oder NaCl nachweisen können. Ich darf daher annehmen, daß ich in der auf dem Filter zurückgebliebenen Substanz, die darauf in Form eines feinen Films ausgebreitet ist, die reine Fadensubstanz vor mir hatte. Die Substanz wurde mit destilliertem Wasser ein wenig angefeuchtet (mit Hilfe eines Zerstäubers) und dann mit einem Hornspatel zusammengeschieben und mit einer Pinzette abgehoben.

Das so gewonnene Ausgangsmaterial ist aber noch nicht einheitlich, da in dem vom Filter abgehobenen Film Wasser in wechselnder Menge enthalten ist, auch wenn man unter möglichst gleichmäßigen Bedingungen unter gleichem Druck und über gleiche Zeit die Filtration nach Absaugen des letzten Washwassers fortsetzt und natürlich auf die nachträgliche Anfeuchtung des Materials verzichtet.

Um also bei den beabsichtigten Quellungsmessungen zu vergleichbaren Resultaten zu kommen, war eine Reduktion auf die Einheit des Trockengewichtes an Fadensubstanz nötig. Da sich sofort ergab, daß die bei 110° getrocknete Fadensubstanz ihr Quellungsvermögen verliert, so habe ich die Bestimmung des Trockengewichtes jeweils *am Ende* des Quellungsversuches vorgenommen, und zwar wurde dazu die Substanz jeweils bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Als Quellungsflüssigkeiten wurden verdünnte HCl- bzw. NaOH-Lösungen von 1—1/10000 normal verwandt, deren p_H jeweils am Ende der jeweils 24 Stunden dauernden Quellungsversuche elektrometrisch gemessen wurde. In jedem Quellungsversuch wurden 3—9 ccm der Quellungsflüssigkeit in geschlossenem Wägglas mit dem Fadenmaterial zusammengebracht. Abb. 2 gibt die Resultate wieder. Auf der Abszisse sind die p_H -Werte eingetragen, auf der Ordinate das erreichte Volum (in Kubikzentimeter pro Milligramm Fadentrockensubstanz). Zur Bewertung der Resultate möchte ich noch hervorheben, daß die Gewinnung des Ausgangsmaterials zwangsläufig mit gewissen Insulten des Materials

verknüpft war, vor allem durch das Zusammenschieben des feinen Films auf der Filtriermembran kommt es oft zu einem Zusammenrollen und Zusammenballen einzelner Teile, die dann bei der nachfolgenden Quellung nicht recht frei werden. Bei der Kleinheit des Glaskörperquellungsdruckes müssen daraus aber schon beachtliche Schwankungen der Resultate resultieren. Daher kommt es meines Erachtens, daß sich die Werte, auch wenn stets die gleichen Gesetzmäßigkeiten den Vorgang beherrschten, nicht sauber auf einer Linie anordnen. Trotzdem aber ist wohl unverkennbar, daß sich die Werte auf einer Kurve anordnen, die im wesentlichen übereinstimmt mit der von mir schon im Jahre 1924 gegebenen

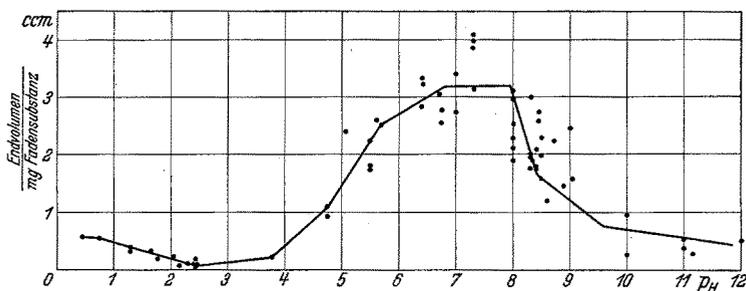


Abb. 2.

Quellungskurve des Glaskörpers. Es findet sich je ein Minimum im sauren und im alkalischen Gebiet. Das Minimum im sauren Gebiet (bei p_H 2,42) entspricht durchaus der damaligen Angabe. Ich fand es 1924, ausgehend vom Gesamtglaskörper, in einer Quellungsflüssigkeit von $\frac{1}{50}$ n HCl und jetzt ausgehend von der reinen Fadensubstanz bei $\frac{1}{60}$ n HCl. Das gleiche gilt von dem Minimum im alkalischen Gebiet, der starke Volumabfall bei p_H 10,0 entsprach einer Quellungsflüssigkeit von $\frac{1}{200}$ n NaOH, während der gleiche Punkt, ausgehend vom Gesamtglaskörper, 1924 für eine Milieufflüssigkeit von $\frac{1}{100}$ normal KOH gefunden wurde.

Das Quellungsmaximum liegt bei meinen jetzigen Versuchen p_H 6,4 und 8,0. Ob wir innerhalb dieser Zone wirklich bei p_H 7,3 einen ausgesprochenen Gipfelpunkt haben, wage ich nicht zu entscheiden, ich selbst möchte gerade in Anlehnung an meine früheren Resultate glauben, daß es sich hier um eine Zufallsabweichung handelt, die innerhalb der durch die Art der Materialgewinnung bedingten Fehlerbreite liegt.

Die zweite Quellungszone im stark sauren Gebiet ist beim Experimentieren mit der reinen Fadensubstanz etwas weniger ausgesprochen, als wenn man vom Gesamtglaskörper ausgeht, doch kann es gar keinem Zweifel unterliegen, daß sich diese zweite Quellungszone von dem bei p_H 2,4 liegenden Minimum deutlich abhebt.

Meine frühere Angabe, daß der isoelektrische Punkt des Glaskörpers bei $p_H = 4,4$ liege, dürfte irrig gewesen sein. Wie aus der obigen Kurve

hervorgeht, liegt das Gebiet des steilsten Volumabfalls zwischen p_H 5,75 und 4,5, die weitere Volumabnahme von p_H 4,0 bis p_H 2,4 ist im Verhältnis dazu gering. Dadurch habe ich mich offenbar täuschen lassen, zumal da die meiner damaligen Angabe zugrundeliegende Essigsäure-Na-Acetatpufferlösung wegen der relativ geringen Dissoziation der Essigsäure nicht bis p_H 2,4 reicht. Eine nochmalige Nachkontrolle mit gleichen Pufferlösungen und ausgehend vom frischen Gesamtglaskörper hat mir auch gezeigt, daß bei p_H 4,4 das Minimum noch nicht erreicht ist. Ich muß daher meine Angabe auf Grund der jetzt ausgeführten zahlreichen elektrometrischen p_H -Messungen, die mir im Jahre 1924 noch nicht zur Verfügung standen, korrigieren.

Es dürfte nach dem Ergebnis dieser Untersuchungsreihe außer Zweifel sein, daß die Glaskörperfadensubstanz fähig ist, zusammen mit verdünnter Salzsäure bzw. NaOH-Lösung ein Gel zu bilden. Gelbildende Substanz kann in diesen Versuchen einzig und allein die Fadensubstanz gewesen sein. Darüber hinaus zeigt sich eine grundlegende Abhängigkeit des Quellungsgrades von der H-Ionenkonzentration des Milieus.

Aus der Übereinstimmung der Form der Quellungskurve, die sich ergibt einmal beim Experimentieren mit dem Gesamtglaskörper und das andere Mal beim Experimentieren mit der reinen Fadensubstanz und insbesondere aus der Übereinstimmung der ausgezeichneten Punkte der Kurve, dürfte sich eindeutig ergeben, daß die Fadensubstanz an dem Zustandekommen der Quellungskurve des Gesamtglaskörpers *wesentlich* beteiligt ist.

Das Quellungsvermögen dieser Fadensubstanz ist dabei ganz außerordentlich groß und dürfte kaum von anderen bekannten Gallerten übertroffen oder auch nur erreicht werden. Da in meinen Versuchen 1 mg Trockensubstanz bis zu einem Volum von 4 ccm bei entsprechendem p_H aufzuquellen vermag, so ergibt sich, daß die Fadensubstanz unter den hier gewählten Bedingungen das 4000fache ihres Eigengewichtes an Wasser zu binden vermag.

Von Interesse ist nun weiterhin eine Betrachtung, wie sich das im Quellungsversuch mit der reinen Fadensubstanz erreichte Endvolum zum Ausgangsvolum verhält, d. h. zum Volum, das das Ausgangsmaterial, dem die Fadensubstanz entstammt, besaß. Abb. 3 gibt das Resultat einer solchen Betrachtung wieder. Auf der Abszisse sind wieder die p_H -Werte eingetragen, auf der Ordinate das Verhältnis von Endvolum zu Ausgangsvolum. Die Werte ordnen sich wiederum im großen ganzen in der gleichen Weise an und zeigen, wie zu erwarten, die gleiche Abhängigkeit von der H-Ionenkonzentration. Nur einige Einzelresultate fallen etwas heraus. Das ist nicht verwunderlich, wenn man bedenkt, daß das Ausgangsmaterial einerseits bei der Entnahme aus dem Auge leicht etwas Flüssigkeit verliert, wodurch das Ausgangsvolum dann etwas zu klein erscheint, und daß andererseits auch bei der Abnahme der

Fadensubstanz von der Filtriermembran etwas Material zurückbleiben kann. Im ersten Fall muß das Verhältnis von Endvolum-Ausgangsvolum etwas zu groß, im letzten Fall etwas zu klein erscheinen. Beachtenswert scheint mir bei dieser Betrachtung aber die Tatsache, daß die reine Fadensubstanz im Quellungsversuch fast bis zu 50% des Glaskörperausgangsvolums wiedergewinnt. Das besagt natürlich nicht, daß auch

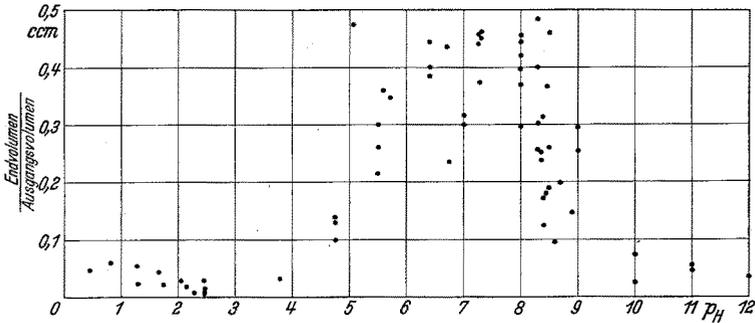


Abb. 3.

im normalen Glaskörper die vorhandene Flüssigkeit zu 50% von der Fadensubstanz gebunden wird, das kann weniger sein (mit Rücksicht darauf, daß in vivo die Quellungsflüssigkeit einen wesentlich höheren Salzgehalt aufweist) und ebensogut wesentlich höher sein, da wir den Grad der mechanischen Schädigung, den das Material durch die vor- ausgehende Behandlung erleidet, nur schwer abschätzen können.

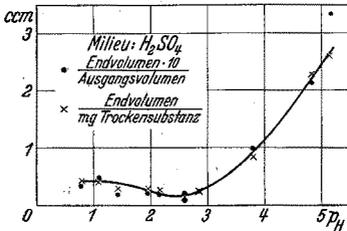


Abb. 4.

Mit Rücksicht auf die Angabe von *Goedbloed*, daß den Sulfationen zumal in höheren Konzentrationen gegenüber den Glaskörperfäden eine besonders stark dehydratisierende Wirkung zukomme, habe ich parallel zu der Salzsäurereihe eine Quellungsreihe mit H_2SO_4 entsprechender

Normalität angesetzt. Es ergibt sich eine Kurve (Abb. 4), die in ganz wesentlichen Eigenschaften mit der für HCl als Quellungsflüssigkeit erhaltenen Kurve übereinstimmt. Es findet sich wieder ein deutliches Minimum, und zwar bei $1/60$ normal H_2SO_4 (mit einem p_H von 2,60). Von da aus steigt die Kurve nach rechts, d. h. für höhere p_H -Werte steil an, völlig übereinstimmend mit den Resultaten der HCl-Reihe. Ferner findet sich nach links vom isoelektrischen Punkt bei steigender H_2SO_4 -Konzentration ebenfalls wieder ein deutlicher Anstieg. Dieser Anstieg dürfte etwas geringer sein als für HCl. Über den Grund dieser Differenz ist später zu sprechen, die Tatsache, daß aber überhaupt links vom isoelektrischen Punkt ein Anstieg der Kurve stattfindet, ist aber

keineswegs vereinbar mit der Annahme von *Goedbloed*, daß hier eine dehydratisierende Wirkung der Sulfationen vorliege, die mit steigender Konzentration zunehme.

Goedbloed nimmt an, daß die starke Volumabnahme im sauren, nach meiner Deutung isoelektrischen Gebiet auf einer durch die starke Mineralsäure bedingten Schädigung der Fadensubstanz beruhe, wodurch der bis dahin vorhandene Widerstand, den das Fibrillensystem dem Ausfließen des Wassers entgegensetzte, aufgehoben werde. Wenn diese Auffassung stimmen würde, so dürfte eine isoelektrisch gemachte Glaskörpergallerte nachträglich in Lösungen anderer H-Ionenkonzentrationen gebracht, kein Quellungsvermögen mehr besitzen. Ich habe dementsprechend die durch

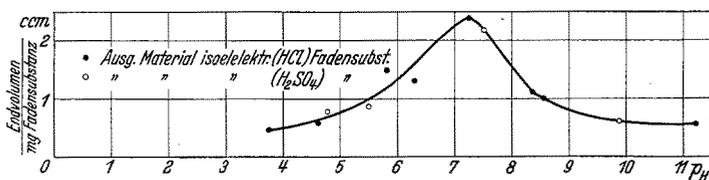


Abb. 5.

die Ultrafiltration gewonnene und gewaschene reine Fadensubstanz in einer Reihe von Versuchen durch mehrstündiges Einlegen in $\frac{1}{60}$ normal HCl- oder H_2SO_4 -Lösung isoelektrisch gemacht und darauf in NaOH-Lösungen verschiedener Konzentration übertragen. Es ergibt sich nun bei diesen Versuchen, deren Resultate in Abb. 5 graphisch wiedergegeben sind, nicht nur ein deutlicher Quellungeffekt bei steigendem pH , es liegt auch das Maximum wieder bei etwa 7,0—7,5, während bei 8,3 wieder ein starker Abfall erfolgt. Das erreichte maximale Endvolumen ist bei diesen Versuchen allerdings beträchtlich kleiner als in den Versuchen, in denen die gewaschene Fadensubstanz jeweils sofort in die verdünnte NaOH-Lösung eingebracht wurde (2,3 ccm/mg Fadensubstanz gegenüber 4,10 ccm/mg Fadensubstanz). Über die Erklärung dieser Erscheinung wird weiter unten zu sprechen sein.

Ich erwähnte oben, daß Trocknen der Fadensubstanz im Wärmeschrank bei 110° das Quellungsvermögen dieser Substanz aufhebt. Es ergab sich daraus die Frage, ob der Verlust des Quellungsvermögens bedingt sei lediglich durch eine Hitzekoagulation des Materials, oder ob etwa die Entziehung vielleicht intracellulär gebundenen Wassers die Fadenstruktur bereits so tiefgehend verändere, daß eine Quellung danach ausbleiben mußte.

Zur Prüfung dieser Frage wurde die durch die Filtration gewonnene Fadensubstanz über P_2O_5 getrocknet und mit diesem Material dann die Quellungsversuche angestellt. Die Trocknung wurde so bewerkstelligt, daß die feuchte Fadensubstanz jeweils auf ein Deckglas gebracht wurde, das im Exsiccator auf ein Drahtnetz über P_2O_5 gelegt wurde. Auf diese

Weise ging die Trocknung sehr schnell vonstatten, so daß Gewichtskonstanz spätestens nach 48 Stunden erreicht war. Die Trocknung war dabei ebenso vollkommen wie die Trocknung bei 110—120° im Trockenschrank. Das ergibt sich aus den Gewichtswerten für die auf die eine und auf die andere Weise getrocknete Fadensubstanz. Ich fand als

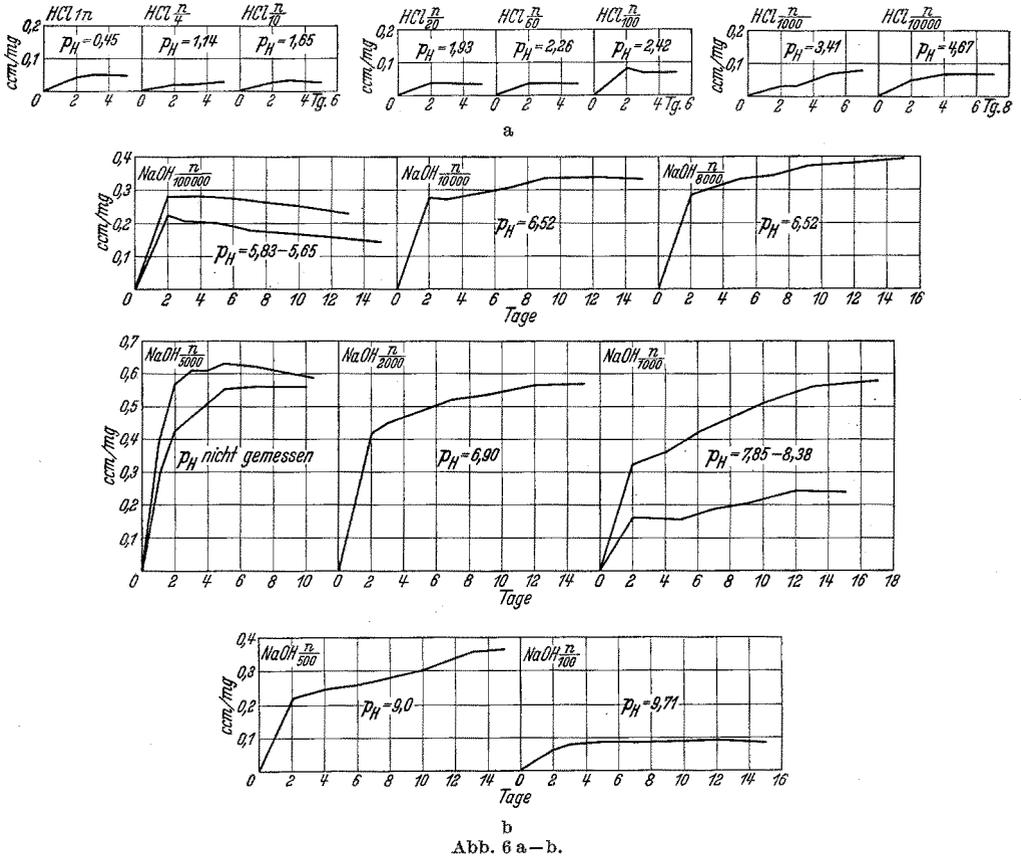


Abb. 6 a—b.

Mittelwert für die Fadentrockensubstanz, bezogen auf das Ausgangsvolumen des unveränderten Glaskörpers

nach Trocknung bei 110—120°	0,123 $\frac{0}{00}$
„ „ „ über P ₂ O ₅	0,143 $\frac{0}{00}$

Dieser geringe Unterschied berechtigt wohl nicht zu der Annahme, daß hier eine wesentliche Differenz im Wassergehalt vorliege, da die individuellen Schwankungen im Promillegehalt des Glaskörpers an Fadensubstanz erheblich größer sind als dieser Differenz entspricht.

Zum Versuch wurde jeweils das Deckglas mit der anhaftenden getrockneten Fadensubstanz in ein geschlossenes Wägegglas, das die geprüfte

Milieuflüssigkeit enthielt, eingebracht. Statt einer Volumbestimmung wurde jedesmal eine Wägung des Deckglases mitsamt der anhaftenden quellenden Fadensubstanz vorgenommen. Das Deckglasgewicht wurde dann abgezogen.

Die mit der über P_2O_5 getrockneten Fadensubstanz angestellten Versuche ergeben ein sehr erhebliches Quellungsvermögen, und zwar wiederum in deutlicher Abhängigkeit von der H-Ionenkonzentration. Die Abb. 6a und 6b zeigen die Quellungskurven bei 5—14tägiger Versuchsdauer. Auf der Ordinate ist jeweils das pro Milligramm Fadensubstanz erreichte Volum eingetragen, während die Abszisse die Zeitangabe enthält. Die bis p_H 4,6 in HCl- (und ebenso in H_2SO_4 -) Lösungen erreichten Volumina sind sehr gering, ein deutliches Minimum bei p_H 2,5 ist nicht klar erkennbar, die im stark sauren Gebiet auftretenden Differenzen dürften innerhalb der Fehlerbreite dieser Messungen liegen. Ein erheblicher Volumanstieg zeigt sich aber bei steigendem p_H . Das Maximum findet sich wieder im gleichen Gebiet, nämlich zwischen p_H 6,5 und 8,0, während von $p_H > 8,5$ wieder ein deutlicher Abfall erfolgt.

Es handelt sich auch nach diesen Versuchen wieder um die gleiche, uns bereits bekannte Volumkurve, nur ist der erreichte Wert des Quellungsvolums pro Milligramm Fadensubstanz erheblich geringer als bei den Versuchen, die von der nicht getrockneten Fadensubstanz ausgingen. Dort wurde rund das 4000fache des Trockengewichtes erreicht, hier nur das 600fache. Die vorausgegangene Trocknung ist also nicht ohne Einfluß auf die Quellfähigkeit geblieben. Zunächst möchte ich glauben, daß es sich dabei um einen vorwiegend mechanischen Effekt handelt, weil mir schon in den ersten Versuchen mit der einfach durch Ultrafiltration gewonnenen Fadensubstanz aufgefallen war, daß das bei der Quellung erreichte Endvolum mitbeeinflußt wurde durch den Grad der bei der Ultrafiltration erzielten Entwässerung. Diese Erfahrung veranlaßte mich schon bald, stets möglichst mit den gleichen Filtern zu arbeiten und die Filtrationsdauer möglichst gleich zu gestalten.

Der ganz überragende Einfluß der H-Ionenkonzentration auf das erreichte Quellungsvolum der reinen Glaskörperfadensubstanz dürfte aus der Gesamtheit dieser Versuche zur Genüge hervorgehen.

Es ist festzustellen, daß sich die oben beschriebenen Resultate gut und ungezwungen in die von *Loeb*¹ entwickelte Theorie der Quellung der Eiweißkörper einordnen. Inwiefern das der Fall ist, soll nun in einzelnen Punkten etwas näher ausgeführt werden. Nach der *Loeb*schen Theorie ist für die Quellung maßgebend der Ionenüberschuß, der sich in der Lösung eines Kolloidelektrolyten gegenüber seiner Milieuflüssigkeit einstellt. Dieser Ionenüberschuß ist das Resultat eines zwischen den Kolloidelektrolyten und der Milieuflüssigkeit bestehenden *Donnan-*

¹ *Loeb, J.*: Die Eiweißkörper und die Theorie der kolloidalen Erscheinungen. Berlin 1924.

Gleichgewichtes. Die *Donnansche* Gleichung wurde primär abgeleitet für ein System, in welchem eine Salzlösung (oder Säuren- oder Laugenlösung) durch eine Membran, die für die Ionen dieser Salzlösung durchgängig ist, getrennt ist von einem Kolloidelektrolyten, dessen kolloidales Ion die Membran nicht passieren kann. Bei dem sich einstellenden Gleichgewicht finden sich die Ionen, für die die Membran durchgängig ist, nicht auf beiden Seiten der Membran in gleicher Konzentration, sondern das kolloidale Ion bindet Ionen des entgegengesetzten Vorzeichens und verdrängt Ionen des gleichen Vorzeichens. Die frei diffusibeln Ionen verteilen sich zu beiden Seiten der Membran derart, daß ihre Produkte zu beiden Seiten der Membran gleich sind. Die wesentliche Voraussetzung für die Einstellung eines *Donnan*-Gleichgewichtes ist diese, daß von den vorhandenen Ionen eine Art dem Diffusionsbestreben nicht folgen kann, da dem die Membran hindernd im Wege steht. Diese Bedingung haben wir aber auch bei der Glaskörpergallerte erfüllt, sofern die Fadensubstanz als Kolloidelektrolyt auftritt. Eine besondere trennende Membran ist hier nicht erforderlich, da die im Fadenverband gebundenen Kolloidionen sich ja ebenfalls nicht frei durch Diffusion ausbreiten können, während ein mechanisches Hindernis für die Diffusion der Krystalloidelektrolyte nicht besteht. Zur Erörterung unserer Befunde ist es notwendig, die *Donnansche* Formel hier anzuführen, ich folge dabei vorwiegend den Ausführungen von *J. Loeb*.

Die Formel lautet:

$$x^2 = y(y + z) \quad \text{oder} \quad x = \sqrt{y^2 + yz}$$

dabei sei x die molare Konzentration der Kationen und der Anionen in der *Außenlösung*;

y die molare Konzentration der (freien) Kationen und Anionen in der *Innenlösung*, mit Ausnahme der mit dem Kolloidelektrolyten zu einem dissoziierbaren Salz verbundenen;

z die molare Konzentration der an den Kolloidelektrolyten gebundenen Ionen.

Wenn wir also von unseren Versuchen ausgehen, bei denen die Glaskörperfadensubstanz in NaOH-Lösungen der Quellung überlassen wurde, so ist:

$$x = [\text{Na}^+] \text{ außen} = [\text{OH}^-] \text{ außen};$$

$y = [\text{OH}^-] \text{ innen} = [\text{Na}^+] \text{ innen}$ (soweit die Na-Ionen nicht mit dem Kolloidanion zu einem Salz verbunden sind);

$z = [\text{Na}^+] \text{ innen}$, und zwar der Teil der Na-Ionen, die mit dem Kolloidanion ein Salz, nämlich ein Natriumalbuminat bilden.

Man kann den obigen Ausdruck auch folgendermaßen schreiben:

$\frac{x}{y} = \frac{y+z}{x}$ oder in den Symbolen für die Anionen- und Kationenkonzentration:

$$\frac{[\text{OH}^-] \text{ außen}}{[\text{OH}^-] \text{ innen}} = \frac{[\text{Na}^+] \text{ innen}}{[\text{Na}^+] \text{ außen}}$$

In dieser Form ist die *Donnansche* Formel in der medizinischen Literatur geläufig.

Der osmotische Druck der Milieufflüssigkeit (Außenlösung) ist bestimmt durch die Summe von Kationen + Anionenkonzentration außen, also $= 2x$.

Der osmotische Druck der Glaskörperflüssigkeit (Innenlösung) ist bestimmt durch die Summe von Anionen + Kationenkonzentration innen, also $y + (y + z)$ oder $2y + z$.

Der osmotische Überdruck in der Innenlösung beträgt also

$$2y + z - 2x.$$

Nach obigem ist $x = \sqrt{y(y+z)}$ oder $\sqrt{y^2 + yz}$

$$2x = \sqrt{4y^2 + 4yz}$$

ferner ist $2y + z = \sqrt{4y^2 + 4yz + z^2}$

statt $2y + z - 2x$ können wir also schreiben

$$\sqrt{4y^2 + 4yz + z^2} - \sqrt{4y^2 + 4yz}.$$

Solange $z = 0$ (oder ein Minimum) ist, ist der ganze Ausdruck $= 0$ (oder ein Minimum), d. h. der osmotische Überdruck ist ein Minimum, solange wir uns im isoelektrischen Punkt befinden, in dem der Ampholyt weder als Base noch als Säure dissoziiert. Mit fortschreitender Entfernung vom isoelektrischen Punkt steigt z entsprechend der fortschreitenden Ionisation des Eiweißsalzes an bis zu einem Maximum, das dann erreicht ist, wenn alle verfügbaren Säure- (oder Basen-) Gruppen ionisiert sind. Die Zunahme von z erfolgt, vom isoelektrischen Punkt ausgehend, sowohl bei Zunahme wie bei Abnahme der H-Ionenkonzentration, im ersteren Fall tritt das Eiweiß als Kation auf und es bildet sich z. B. ein Eiweißchlorid, im zweiten Fall tritt es als Anion auf und es bildet sich z. B. ein Natriumalbuminat. Dabei ist natürlich keineswegs nötig, daß der erreichbare Maximalwert von z auf der sauren und auf der basischen Seite, vom isoelektrischen Punkt aus gerechnet, gleich groß sei. Das hängt ab von der Zahl der NH_3 bzw. COOH -Gruppen, die jedes Eiweißmolekül enthält.

Eine Vergrößerung des Faktors y vermindert den osmotischen Überdruck der Innenlösung. Eine solche Vergrößerung von y kommt zustande, wenn man, ausgehend vom isoelektrischen Punkt, zur Änderung des pH -Wertes Säure oder Alkali zugibt oder durch Zugabe von Neutralsalz. In der Auswirkung überwiegt bei der Säure oder Laugenzugabe die gleichzeitige Vergrößerung von z , so daß der osmotische Überdruck steigt. Die Vergrößerungsmöglichkeit von z ist aber begrenzt, sie kann nur zunehmen bis zur vollständigen Dissoziation der sauren oder der basischen Gruppen des Eiweißmoleküls. Im Gegensatz dazu ist eine wesentlich stärkere Vergrößerung von y möglich, da ich ja über diesen Punkt hinaus Säure oder Lauge und dazu auch Neutralsalz zugeben kann. Dadurch kann y

schließlich so groß gegenüber z werden, daß z schließlich fast völlig zu vernachlässigen ist. Der osmotische Überdruck wird also nach Passieren eines Maximums wieder auf einen kleinen Wert absinken müssen. Die Quellungskurve der Glaskörperfadensubstanz zeigt zwei sehr ungleiche Schenkel. Der Anstieg der Kurve auf der sauren Seite ist sehr gering im Vergleich zu dem starken Anstieg auf der Gegenseite. Diese Verhältnisse sind nach den obigen Ausführungen wohl verständlich. Der isoelektrische Punkt liegt bereits im recht stark sauren Gebiet. y ist also bereits recht groß, ehe z durch weitere Säurezugabe überhaupt einen endlichen Wert erreichen kann. Der osmotische Überdruck wird daher nennenswerte Höhe überhaupt nicht erreichen.

Ganz anders sind dagegen die Verhältnisse bei einer Verschiebung der H-Ionenkonzentration zur basischen Seite hin. In einem Teil der Versuche wurde dieser höhere p_H -Wert dadurch erzielt, daß zu dem durch die Ultrafiltration gewonnenen reinen Fadenmaterial als Milieuflüssigkeit Säure nur in schwächerer Konzentration, als der isoelektrischen Reaktion entspricht, zugesetzt wurde. Das bedeutet eine Abnahme von y . Es geht also mit der Vergrößerung von z eine Abnahme von y einher. Es ist zu erwarten, daß also der Anstieg des osmotischen Überdruckes hier besonders steil verläuft. Erst von p_H 5,3 an (das ist die Reaktion des destillierten Wassers, das gegen Eindringen von Kohlensäure nicht geschützt ist), wurde dann NaOH in steigender Konzentration zugesetzt, so daß also erst von diesem Punkte an eine Vergrößerung von y erfolgt, mit dem Erfolg einer Bremsung des osmotischen Druckanstieges.

In einem zweiten Teil der Versuche, die jeweils von der *isoelektrischen* Fadensubstanz ausgingen, wurde zur Vergrößerung von p_H NaOH in steigenden Mengen zugegeben. Hier erfolgt zwar keine Verminderung von y , andererseits aber zunächst auch kein Anstieg von y , da für jedes eintretende Na^+ ein H^+ verschwindet. Ein stärkerer Anstieg von y beginnt erst jeweils von $p_H = 7,0$. Es ist also auch in diesen Versuchen allein schon aus der Betrachtung von y auf der basischen Seite vom isoelektrischen Punkt aus ein stärkerer Anstieg des osmotischen Überdruckes zu erwarten als auf der sauren Seite, doch ist der Anstieg weniger stark als in der ersten Versuchsgruppe, die einfach von der reinen Fadensubstanz ausging. Die Kurven 2 und 5 zeigen, daß diese Erwartungen tatsächlich erfüllt sind und daß insbesondere der erreichte Maximalwert in Kurve 5 beträchtlich niedriger liegt als in Kurve 2.

Nach *Goedbloed* sollten SO_4 -Ionen stark dehydratisierend wirken, während Cl-Ionen ohne wesentlichen Einfluß sein sollten. Nach den Ausführungen von *Loeb* besteht entsprechend der *Donnanschen* Formel $\frac{x}{y} = \frac{y+z}{x}$ ein verschiedener Einfluß der Anionen nur auf der sauren Seite vom isoelektrischen Punkt aus (denn nur auf der sauren Seite tritt der Faktor z als Anion auf) und zwar lediglich nach der Valenzregel. Während der osmotische Überdruck bei Anwendung einwertiger

Säuren durch den Ausdruck $2y + z - 2x$ charakterisiert ist, gilt entsprechend für zweiwertige Säure

$$\frac{3}{2}y + \frac{z}{2} - \frac{3}{2}x.$$

Der Maximalwert für den auf der sauren Seite vom isoelektrischen Punkt aus erreichbaren osmotischen Überdruck ist danach etwa nur halb so groß bei Anwendung von H_2SO_4 wie bei Verwendung von HCl .

Die auf der *sauren* Seite bei unseren Versuchen erreichten Volumina sind nur gering und daher eine Differenz in der Wirkung von HCl und H_2SO_4 nur schwer zu prüfen, zweifellos ist diese Differenz nicht größer als nach den Ausführungen *Loebs* zu erwarten ist.

Abb. 7 stellt die Resultate für einen direkten Vergleich übersichtlich dar. Das erste Kurvenpaar gibt das Endvolum/Milligramm Fadensubstanz für HCl und H_2SO_4 als Milieuflüssigkeit wieder und das zweite

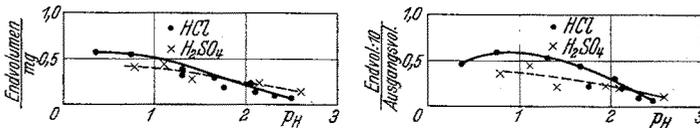


Abb. 7.

Kurvenpaar das gleiche Resultat, aber nunmehr das Endvolumen bezogen auf das Ausgangsvolumen.

Beide Male sieht man, daß tatsächlich die Kurve für H_2SO_4 als Milieuflüssigkeit etwas flacher verläuft. Daß sich die Maxima für HCl und für H_2SO_4 nicht genau wie 2:1 verhalten, wie es wohl nach der *Loebschen* Theorie zu erwarten wäre, kann angesichts der überhaupt erreichten Volumina nicht wundernehmen.

Auf der *basischen* Seite vom isoelektrischen Punkt aus soll nach *Loeb* keinerlei spez. Anioneneinfluß wahrnehmbar sein. Tatsächlich fällt auch der aufsteigende Schenkel von Kurve 4 (für H_2SO_4) durchaus mit dem entsprechenden Teil von Kurve 2 und 3 (für HCl) zusammen. Auch liegen auf Abb. 5 die in $NaOH$ steigender Konzentration erhaltenen Volumwerte auf ein und derselben Kurve, gleichgültig, ob ich von einem in HCl oder in H_2SO_4 isoelektrisch gemachten Material ausging.

Diese Resultate haben nur eine äußere Ähnlichkeit mit den Ausführungen von *Goedbloed*, wonach Cl^- und SO_4^{2-} -Ionen in geringer Konzentration leicht dehydratisierend und in hoher Konzentration Cl^- -Ionen fast ohne Einfluß seien, dagegen die SO_4^{2-} -Ionen sehr stark dehydratisierend auf die Glaskörperfadensubstanz wirken sollen.

Während also nach *Loeb* und in Übereinstimmung damit auch in unseren Versuchen auf der basischen Seite ein spez. Anioneneinfluß fehlt, soll ein Kationeneinfluß nach der Wertigkeitsregel vorhanden sein.

Abb. 8 gibt, ausgehend von (in HCl) isoelektrisch gemachter Fadensubstanz, die Resultate zweier Versuchsreihen wieder, wobei als

Quellungsflüssigkeit einmal NaOH und einmal $\text{Ca}(\text{OH})_2$ verwandt worden war. Es ist offenkundig, daß die Volumkurve in $\text{Ca}(\text{OH})_2$ als Quellungsflüssigkeit sich rund halb so hoch erhebt als in NaOH, ein Resultat, das nach den *Loeb*schen Ausführungen zu erwarten ist.

Nach der Theorie von *Loeb* ist die treibende Kraft für die Volumzunahme bei der Gelquellung der osmotische Überdruck, der sich nach der *Donnanschen* Formel im Innern des Gels einstellen muß. Mit fortschreitender Quellung nimmt die Konzentration des Kolloidelektrolyten ab, dadurch wird der osmotische Überdruck mit fortschreitender Quellung geringer. Die Quellung kommt zum Stillstand, wenn der noch vorhandene kleine osmotische Überdruck und die Kohäsionskräfte der Eiweißmoleküle sich das Gleichgewicht halten. In unserem Fall sind die Verhältnisse dadurch etwas kompliziert, daß die gelbildende Substanz eine

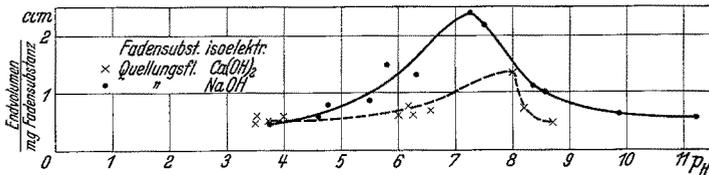


Abb. 8.

Fadenstruktur hat und daß bei der Zusammendrängung dieser Fäden bei der Filtration oder gar bei der Trocknung unregelmäßige Verfilzungen entstehen, die dem Aufquellen der Substanz in wechselndem Maße Widerstand entgegensetzen. Dadurch dürfte es bedingt sein, daß die Resultate der Quellungsmessungen nicht sauber auf einer Kurvenlinie liegen. Weiterhin ist das auch vielleicht der Grund dafür, daß das erreichte Quellungsvolumen (pro Milligramm Fadensubstanz) wesentlich geringer war, wenn das durch die Ultrafiltration gewonnene Material vor Beginn des Quellungsversuches noch über P_2O_5 getrocknet wurde. Während bei Ausgang von dem einfach durch die Filtration zusammengedrängten Material bis zum 4000fachen des Trockengewichtes erreicht wurde, fand sich bei Ausgang vom getrockneten Fadenmaterial maximal ein Aufquellen bis zum 600fachen des Ausgangsgewichtes. Für die Auffassung, daß im letzteren Fall die relativ grob mechanisch der Quellung entgegenstehenden Kräfte größer waren, spricht auch die Beobachtung, daß das Quellungsmaximum dabei wesentlich später, d. h. oft erst nach > 10 Tagen erreicht wurde, während bei Ausgang vom feuchten Material meist nach 24 Stunden bereits das Maximum erreicht war. Dabei ist doch in beiden Fällen der nach der *Donnanschen* Regel sich einstellende osmotische Überdruck gleich groß und von vorneherein in voller Größe vorhanden.

Es erhebt sich nun die Frage, welche Vorstellung man sich von dem Quellungsvorgang machen soll. Möglich wäre einmal, daß auf Grund

der *Donnanschen* Formel, d. h. auf Grund des Anionenüberschusses auf der sauren Seite und auf Grund des Kationenüberschusses auf der basischen Seite der Wasserübertritt aus der Milieuflüssigkeit in die Räume zwischen den Fäden erfolgt. Immerhin aber ist zu bedenken, daß das Quellungsvermögen der hier vorliegenden Substanz ganz ungewöhnlich groß erscheint, so daß es nahe liegt, nach Besonderheiten, die als unterstützende Faktoren zu werten sind, zu suchen. Eine Besonderheit scheint mir hier in der Fadenstruktur der gelbildenden Substanz gegeben zu sein. Es wäre durchaus möglich, daß die Volumkurve mitbeeinflußt wäre durch die Gestalt, die die Fäden annehmen, in dem Sinne, daß eine möglichste Ausstreckung der ungeordnet liegenden Fäden zu einer Volumvermehrung des Glaskörpers unter Wasseraufnahme in die Maschenräume führen würde, während ein Auseinanderbrechen oder eine Verkürzung und Krümmung der Fäden zu einer Wasserabgabe führen könnte.

Um zu diesen Fragen noch etwas tieferen Einblick zu gewinnen, habe ich zunächst versucht mir Rechenschaft über den wahrscheinlichen Bau der Glaskörperfäden zu geben. Meines Erachtens werden die Fäden gebildet jeweils durch eine mehrreihige Molekülkette. Zu dieser Auffassung führt zunächst einmal die Bestimmung des Fadendurchmessers, der sich aus dem Gehalt an Trockensubstanz und aus dem mittleren Fadenabstand errechnen läßt. Ich fand zusammen mit *Thiessen* im Immersionsultramikroskop einen mittleren Fadenabstand von $2,2 \mu$, d. h. eine Fläche von 1 qmm wird von $455^2 = 21 \times 10^4$ Fäden durchstoßen. Die Gesamtlänge dieser Fäden beträgt im Kubikmillimeter $21 \times 10^4 \text{ mm}$. Da im Immersionsultramikroskop von den tatsächlich vorhandenen Fäden nur etwa die Hälfte zur Darstellung kommt, so dürfte die Gesamtlänge im Kubikmillimeter rund $42 \times 10^4 \text{ mm}$ betragen. Der Gehalt an trockener Fadensubstanz beträgt im Mittel $0,123 \text{ mg}$ (der Wert von $0,142 \text{ mg}$ für P_2O_5 Trocknung bezieht sich auf eine viel kleinere Zahl von Bestimmungen) pro 1 ccm , d. h. im Kubikmillimeter beträgt das Gewicht der Fadensubstanz trocken $1,23 \cdot 10^{-4} \text{ mg}$.

Diese Substanzmenge ist verteilt auf eine Fadenlänge von $42 \cdot 10^4 \text{ mm}$. Auf einen Faden von 1 mm Länge käme also eine Substanzmenge von $\frac{1,23}{4,2} \cdot 10^{-9} \text{ mg}$.

Das Volum dieser Substanzmenge beträgt, wenn man das spezifische Gewicht der Fadensubstanz, das vorerst nicht genauer bekannt ist, dem des Wassers gleichsetzt, $0,29 \cdot 10^{-9} \text{ cmm}$. Die Dicke dieses Fadens von 1 mm Länge berechnet sich nach der Formel $\pi r^2 \cdot l = V$.

$$\begin{aligned} r^2 &= \frac{0,29}{3 \cdot 14} \cdot 10^{-9} \text{ mm}^2 & r &= 0,96 \cdot 10^{-5} \text{ mm} \\ &= 0,93 \cdot 10^{-10} & &= 0,96 \cdot 10^{-2} \mu \\ & & &= 9,6 \text{ m}\mu. \end{aligned}$$

Der Durchmesser des Fadens ($2r$) ist also von der Größenordnung $19 \text{ m}\mu$.

Das ist immerhin noch eine Fadendicke, die zu der Annahme zwingt, daß es sich bei den Glaskörperfäden wahrscheinlich um mehrreihige Molekülketten handelt (der Durchmesser eines Hämoglobinmoleküls beträgt nach *Zsigmondy* etwa $2,5 \text{ m}\mu$). Unter diesen Umständen ist es sehr wahrscheinlich, daß bei dem Quellungs Vorgang Wasser auch in die Fäden selbst eintritt und dabei die Fäden zur Ausstreckung bringt. Dabei können die Kräfte, die Wasser an die Fäden heranzutreten und in die Fäden einzutreten zwingen würden, durchaus die von *Loeb* definierten osmotischen Kräfte sein, die auftreten in Abhängigkeit vom Ionisationszustand der die Fäden aufbauenden Moleküle. Der Befund, daß die Glaskörperquellung den Gesetzen der *Loeb*schen Theorie von der Quellung der Eiweißkörper folgt, würde dann so zu deuten sein, daß die Zwischenräume zwischen den ungeordnet liegenden Fäden um so größer werden und um so mehr Wasser in diese aufgenommen wird, je größer die Tendenz der Fäden zur Ausstreckung wird. Man würde also demnach unterscheiden müssen zwischen einem durch osmotische Kräfte gebundenen Anteil des Wassers und einem durch Capillarkräfte gebundenen Teil. Um Aufschluß zu erhalten über eine solche als wahrscheinlich angenommene Beteiligung der Fadenform an einer Volumänderung des Glaskörpers, habe ich versucht, den Vorgang der Entquellung und Quellung im Ultramikroskop zu verfolgen. *Goedbloed* hat mit Recht darauf hingewiesen, daß bei meiner früheren Beschreibung der Glaskörperstrukturänderung bei Annäherung an den isoelektrischen Punkt das Bild durch eine gleichzeitig stattfindende körnige Ausfällung des Mucoproteins kompliziert gewesen sei. Er stellte fest, daß bei Hintenanhalten dieser Mucoproteinausfällung eine Persistenz der Fäden auch im stark sauren Gebiet (um p_H 3,0) ultramikroskopisch wahrnehmbar sei. Das Körnigwerden der Fäden von p_H 5,0 an abwärts und die schließliche Umwandlung des ganzen Strukturbildes in eine gleichmäßige körnige Substanz deutet *Goedbloed* als den Effekt einer Überdeckung durch die bei saurer Reaktion auftretende Mucinausfällung. Das gekörnte Aussehen der Fäden resultiert aus der Ausflockung von Ultramikronen aus der interfibrillären Flüssigkeit, die sich auf den Fäden niederschlagen, die Fäden selbst werden dabei nicht wesentlich geändert. Ich bin nun bei meinen Untersuchungen wiederum von der reinen Fadensubstanz ausgegangen, die in $\frac{1}{3300} - \frac{1}{5000}$ normal NaOH wiederum bis rund 50% des Ausgangsvolums aufgequollen war. Ein Stückchen dieser Gallerte wurde in eine kleine Glaskammer gebracht und im Spaltultramikroskop (Beleuchtungssystem Winkel 3, Beobachtungssystem Winkel Fluorit 13 mm, Ok. 6) untersucht. Darauf wurde $n/60$ HCl zugegeben und die eintretenden Veränderungen beobachtet. Am besten kommen die Beobachtungen zum Ausdruck durch Wiedergabe eines bei der Beobachtung niedergeschriebenen Protokolls: „Typisches Glaskörperbild, Glaskörperfäden sehr zart, aber deutlich erkennbar, Fäden durchaus glatt, Lagerung in wechselnder Dichte,

ähnlich wie im nativen Glaskörper doch Fäden im ganzen wohl etwas dichter gefügt, so daß Auflösung stellenweise etwas schwieriger als normal. Fäden vielleicht auch lichtschwächer als normal.“

Ein Stückchen dieses Glaskörpers wird dann in der Kammer in $n/60$ HCl eingelegt. „Die Fäden werden schnell körnig, die glatte Lagerung ändert sich schnell durch eine netzartige Umgruppierung, wobei die Netzbalken oft zu unscharf begrenzten körnigen Streifen werden. Danach verkleinern sich die Maschen schnell. Jetzt sind auch vielfach Fäden sichtbar, die sich in mehrere aufzuteilen scheinen, man kann aber vielfach sehen, daß der Stamm heller ist und aus mehreren zusammengelegten Fäden bestehen dürfte. Eine Differenzierung ist aber nicht mehr möglich, da es sich eben einfach um einen Körnerfaden handelt. Die Schrumpfung, d. h. Annäherung der Elemente, ist im Netzkular sicher zu verfolgen. Der größte Teil ist bald eine feinkörnige, bläulich opaleszierende Masse, die nicht auflösbar ist. Daneben finden sich wieder Stellen, wo ganz eng gefügt kurze Körnerketten wirt durcheinander liegen, die dann ohne scharfe Grenze in eine körnige Masse ohne Richtung übergehen. Es gelingt auch im *Zsigmondyschen* Immersionsultramikroskop nicht, diese rein körnigen Teile wieder weiter aufzulösen.“

In einem anderen Protokoll habe ich notiert, daß ich unter Einwirkung der $n/60$ HCl-Lösung besonders günstig gelagerte Fäden nicht nur körnig werden, sondern auch einreißen und zusammenschnurren sah.

Weitere ultramikroskopische Beobachtungen beziehen sich auf den umgekehrten Vorgang. Die in $n/60$ HCl zur Entquellung gebrachte Glaskörperfadengallerte wurde in eine Kammer mit reichlich $n/3300$ NaOH überführt. Die NaOH-Lösung wurde einige Male erneuert.

Der Quellvorgang verläuft nun viel langsamer. Untersuchungen, die im Verlaufe der nächsten 2 Stunden vorgenommen wurden, ließen keine Änderung erkennen. Mein Protokoll dazu lautet: „Der größte Teil bleibt unverändert unauflösbar feinstkörnig, dazwischen Stellen mit größerer Körnelung, die zum Teil auch streifige Lagerung zeigen. Körnerketten sind besonders auch an Randstellen sichtbar, eine sichere Streckung bzw. Verlängerung dieser Körnerketten ist bei Verwendung des Netzkulars nicht festzustellen, doch ist eine geringe Gesamtquellung durch fortschreitende Verschiebung des Gesamtgesichtsfeldes erkennbar. Auch im *Zsigmondyschen* Immersionsultramikroskop nichts von Fadenstruktur erkennbar.“ 24 Stunden später: „Das in $n/3300$ NaOH aufgehobene Glaskörperstückchen ist inzwischen makroskopisch etwas gequollen. Im Immersionsultramikroskop kann man an einigen Stellen eine ganz zarte Kurzfadenstruktur bei gutem Willen wahrnehmen. Andere Stellen sind unverändert rein gekörnt.“ Nach mehrtägigem Verweilen in der Quellungsflüssigkeit [sowohl Untersuchungen, die sich auf NaOH beziehen als auch solche, die sich auf $\text{Ca}(\text{OH})_2$ beziehen], zeigt sich dann im

Immersionssultramikroskop jeweils wieder eine deutliche Kurzfasersstruktur. Die Fäden sind vielfach gekrümmt und relativ dicht gedrängt, aber durchweg gut erkennbar und glatt.

Nach diesen Beobachtungen dürfte es feststehen, daß die Annahme von *Goedbloed*, die Fadenstruktur werde bei fortschreitender Säuerung des Milieus nicht wesentlich geändert und die Körnelung sei lediglich der Erfolg einer nebenher verlaufenden Mucinausfällung, nicht aufrechterhalten werden kann.

Die Umwandlung der glatten, gerade ausgestreckten Fäden in kürzere Körnerketten ist bei Ausschaltung aller störenden parallel verlaufenden Vorgänge klar erkennbar. Entscheiden kann ich allerdings nicht, ob der Verband der Körner zu Kettenreihen bestehen bleibt, oder ob die Ketten in kürzere Stücke oder gar Einzelkörner auseinanderfallen. Diese Entscheidung ist deswegen schwer, weil unter der Einwirkung der $n/60$ -HCl-Lösung die Elemente so dicht aneinandergedrängt werden, daß eine entsprechende Auflösung auch im Immersionssultramikroskop nicht mehr gelingt. Es ist das eine Erscheinung, die man schon bei der ultramikroskopischen Untersuchung der durch die Ultrafiltration rein gewonnenen Fadensubstanz beobachtet. Auch in diesem Material sind selbst im Immersionssultramikroskop an vielen Stellen Fäden nicht mehr erkennbar. Aus der Tatsache, daß also das isoelektrische Material auf weite Strecken hin rein körnig erscheint, kann man also nicht schließen, daß ein Verband der Körner zu Körnerketten nicht mehr besteht. Aus der Tatsache aber, daß ich fast überall an den Randteilen im isoelektrischen Material Körnerketten bestehend sah, möchte ich schließen, daß auch in der Hauptmasse des Materials diese Struktur gewahrt blieb.

Beim Quellungsvorgang verläuft die Strukturumwandlung rückläufig. Aus den Körnerreihen werden wieder glatte Fäden, diese allerdings unterscheiden sich von den Fäden des vorher noch nicht isoelektrisch gemachten Materials dadurch, daß sie meist gekrümmt waren und daß die Fäden, soweit zu sehen, kürzer blieben. Am bedeutungsvollsten erscheint mir aber die Tatsache, daß die Fäden wieder durchaus glatt erscheinen.

Diese Feststellung, daß ausgehend vom isoelektrischen Material bei der Quellung die Fäden nur eine geringere Länge erreichten und durchweg stärker gekrümmt blieben, gibt, wie mir scheint, auch eine Erklärung dafür, daß einmal isoelektrisch gemachtes Material im Quellungsversuch nur ein geringeres Volum erreicht als die reine, unvorbehandelte Fadensubstanz in der gleichen Quellungsflüssigkeit. Dabei ist natürlich eine gleichzeitige Mitwirkung der oben erörterten Salzwirkung (Vergrößerung des Faktors γ) keineswegs ausgeschlossen.

Bezüglich der Vorstellungen über den Bau der Fäden stimme ich, soweit ich sehe, mit *Goedbloed* überein. Die Moleküle verbinden sich untereinander durch Gruppen, die keine Affinität zum Wasser haben.

Im Gegensatz dazu wenden sich die ionisierbaren Gruppen im Zustande der Ionisation dem Wasser zu, während im isoelektrischen Punkt, d. h. bei fehlender oder auf ein Minimum herabgesetzter Ionisation dieser Richtungszwang nicht besteht oder soweit herabgesetzt ist, daß die Kräfte der Oberflächenspannung überwiegen und so aneinandergereihte Kugeln entstehen.

Welche Rolle das Mucoprotein im Glaskörper spielt, vermag ich vorerst nicht zu sagen. Vielleicht war es zu viel behauptet, wenn ich sagte,

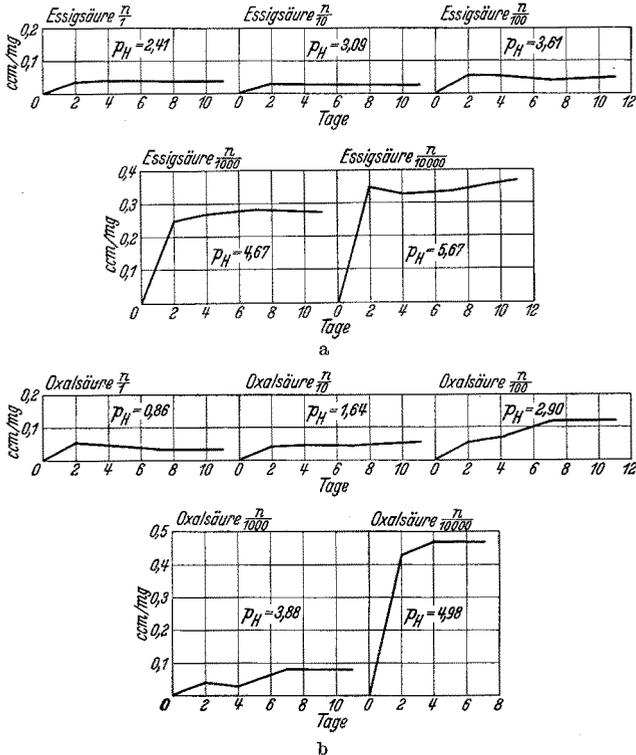


Abb. 9 a und b.

daß „die“ gelbildende Substanz des Glaskörpers die Fäden seien, weil darin vielleicht eine unberechtigte Vernachlässigung des vorhandenen Mucoproteins enthalten war, dessen Rolle wir, wie gesagt, einstweilen nicht kennen. Zweifellos aber dürfte sein, daß die Fadensubstanz einen sicher für die Eigenschaften des Glaskörpers und seine Gelnatur ganz integrierenden Bestandteil darstellt.

Ich habe oben über eine Reihe von Befunden berichtet, die sich der *Loeb*schen Theorie von der Quellung der Eiweißkörper gut einfügen. Zum Schluß sei noch eine Beobachtung erwähnt, die sich nicht nach

Erwarten einfügt. Bei den von der getrockneten Fadensubstanz ausgehenden Quellungskurven habe ich neben der HCl-Reihe (Abb. 6a) auch je eine Reihe mit H_2SO_4 , Essigsäure und Oxalsäure angestellt. Die H_2SO_4 -Reihe unterscheidet sich nicht merklich von der mit HCl angesetzten Reihe, dagegen zeigte sich bei den Quellungsversuchen mit Essigsäure und mit Oxalsäure (Abb. 9a und 9b) bei starker Verdünnung eine stärkere Quellbarkeit der Fadensubstanz; beide zeigten bei einem p_H von etwa 4,7 aufwärts eine Quellung, die wesentlich stärker war als bei entsprechendem p_H der beiden Mineralsäuren. Dieser Effekt war insofern unerwartet, als nach der *Loeb*schen Theorie ein spezifischer Einfluß der Anionen auf der basischen Seite, vom isoelektrischen Punkt aus gerechnet, nicht vorhanden sein soll. Ob es sich hier evtl. um den Effekt einer stärkeren Adsorbierbarkeit dieser organischen Säuren mit zusätzlicher osmotischer Wirkung handelt, kann ich vorerst nicht entscheiden. Ich bin dieser Frage jetzt nicht weiter nachgegangen. Erwähnen aber möchte ich, daß sich dieser Befund auch keineswegs nun im Gegensatz zu *Loeb* für die entscheidende Bedeutung der *Hofmeisterschen* Anionenreihe verwenden läßt, da in dieser Reihe Oxalat und Acetat zwischen Sulfat und Chlorid stehen.
