

geln nur ein besonderes Futter verabreicht wurde. Es ist angegeben worden, daß bei einer Verfütterung von Wickensamen bei diesen Tieren eine der Leberdystrophie entsprechende Leberschädigung entstehen soll. Es sollte also bei dieser zweiten Versuchsanordnung die Frage geprüft werden, ob durch eine besondere Nahrung eine Leberdystrophie erzeugt werden könnte.

Bei der ersten Serie haben wir nach 2 Tagen bei 3 von 5 Tieren (Vögel Nrn. X—XV) eine leichte Plasterung des Gefieders beobachten können, die am folgenden Tag noch zunahm, am 4. Tag nach dem Beginn mit der Verfütterung sind 3 der 5 verwendeten Versuchstiere eingegangen. Bei der makroskopischen Untersuchung konnte man nichts Besonderes feststellen.

Spätere, unter gleichen Bedingungen durchgeführte Kontrollen ergaben außer Aufplustern des Gefieders in der 1. Woche keine pathologischen Reaktionen, obwohl diese Tiere die Nahrung während 3 Monaten erhalten haben (Vögel Nrn. XX—XXIII).

Fütterungsversuche mit Wickensamen:

Tier Nr. X, S.N. 1:

Lunge: stark gestaut, feine Blutungen in Alveolen.

Magen: intaktes Epithel, ohne entzündliche Infiltrate.

Myokard: blutreich, leicht fragmentiert.

Leber: umschriebene kleine Zelluntergänge, einzelne Elemente degenerativ verändert. Beinahe granulomartige Degenerationsherde.

Tier Nr. XI, S.N. 2:

Leber: starke Blutüberfüllung, Ausweitung der Kapillaren, teilweise Nekrose einzelner Elemente.

Tier Nr. XII, S.N. 3:

Leber: Vakuolenbildungen von Leberzellen. Dissoziation mit Zelluntergängen.

Tier Nr. XX, S.N. 17:

Leber: feine Vakuolenbildungen, zum Teil ausgesprochene Verfettung. Leberzelluntergänge mit Kernverlust und eigenartiger Homogenisierung größerer Gebiete, ohne zellige Reaktion.

Tier Nr. XXI, S.N. 18:

Leber: blutreich, geringe Zellverfettungen, keine Nekrosen.

Die Resultate unserer Experimente scheinen bescheiden. Die Epidemie von Leberdystrophie in Basel war insofern atypisch, als nur vereinzelte Infektionsketten bei den Erkrankten festzustellen waren, wie auch aus den Arbeiten von STAUB¹ und MÜLLER² hervorgeht. Es bleibt deshalb die Frage offen, ob nicht eine bis jetzt unbekannte exogene Noxe hier anzuschuldigen sei, vielleicht ein Stoff, der mit Nahrung aufgenommen wurde.

Bei der oben angegebenen Lebererkrankung ist nicht sicher erwiesen, ob tatsächlich eine Virusinfektion in Frage kommt. Die Verhältnisse sind darum nicht ohne weiteres mit den Untersuchungen über Poliomyelitis zu vergleichen, wie sie TRASK, VIGNÉE und PAUL³ mit großem technischem Aufwand bei der Heine-Medinschen Krankheit durchgeführt haben. Der Befund von bestimmten Leberschädigungen mit kleinen Nekrosen läßt aber doch den Schluß zu, daß eine Leberschädigung durch Übertragung von infektiösem Material erzeugt werden kann. Die Experimente der Übertragung dieser Krankheit auf Wellensittiche fortzusetzen scheint berechtigt, da es sich hier um ein Tier zu handeln scheint, bei dem solche Lebererkrankungen erzeugbar sind.

G. BODOKY

Pathologisches Institut der Universität Basel, den 2. Oktober 1947.

¹ H. STAUB, Schwiz. med. Wschr. 28, 623 (1946); Helv. med. Acta 14, 334 (1947).

² TH. MÜLLER, Schweiz. med. Wschr. 77, 796 (1947).

³ J. D. TRASK, A. J. VIGNÉE und J. R. PAUL, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 38, 148 (1938).

Summary

Report on experiments in which parakeets (*Melopsittacus undulatus*) were inoculated with extracts from the stool of patients with hepatitis. Transitory disease symptoms could be found in some animals. Microscopically a certain degree of degeneration and necrosis of the liver cells could be demonstrated.

In another series the attempt was made to produce a hepatic dystrophy in parakeets by means of special feeding (sweet-pea seeds). The results varied; in some cases a slight necrosis of the liver occurred.

PRO LABORATORIO

Die spektrophotometrische Bestimmung von Cytochrom c im Gewebe

Im Laufe der in der Poliklinik Lausanne in den letzten Jahren durchgeführten Untersuchungen über das Vorkommen von Cytochrom c unter normalen und pathologischen Bedingungen wurden die bisher gebräuchlichen spektrophotometrischen Bestimmungsmethoden¹ auf ihre praktische Brauchbarkeit hin geprüft. Es hat sich dabei fast von selbst eine Methode entwickelt, die neben kleineren Verbesserungen die Vorteile der bisherigen Methoden in sich vereinigt, einfach durchzuführen ist und zufriedenstellende Resultate gibt.

Prinzip

Mechanische Eröffnung der Zellen, Extraktion des Cytochroms in saurer Lösung, Entfernung von störenden Pigmentproteinen mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Fällung des Cytochroms mit CCl_3COOH , spektrophotometrische Bestimmung von Ferrocyanocytchrome c in alkalischer Lösung auf Grund der Extinktionsdifferenz zwischen den Wellenlängen $550 \text{ m}\mu$ und $560 \text{ m}\mu$.

Praktische Durchführung

1. *Extraktion*: 0,2–30 g (a) gut zerkleinertes, frisches Gewebe wird mit einem bestimmten Volumen (z. B. 0,5–1 cm³) feinsten Quarzsandes (es muß bekannt sein, wieviel Wasser er aufsaugen kann) und etwas destilliertem Wasser zu einer breiartigen, homogenen Masse zerrieben. Unter fortwährendem Mischen und Zerreiben wird pro g Frischgewebe zuerst 1,25 cm³ H_2SO_4 n/1 und dann 0,5 cm³ NH_4OH 2n zugegeben. Bei Ausgangsmengen unter 2 g wird wie für 2 g verfahren. Die homogene Masse wird 20 Minuten stehengelassen, nochmals gut durchgemischt und zentrifugiert. Die Gesamtmenge (b) und die Menge der überstehenden Flüssigkeit (c) werden bestimmt.

2. *Ausfällung von Hämoglobin*: Der abgegossenen trieben Flüssigkeit wird das gleiche Volumen $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 50% zugesetzt, und das Ganze während 10 Minuten bei einer Temperatur von 55° C gehalten. Nach dem Erkalten wird das Gemisch filtriert.

3. *Ausfällung von Cytochrom c*: Auf je 10 cm³ des klaren Filtrates werden 1 cm³ CCl_3COOH 90% zugegeben und gut durchgemischt. Beim Stehenlassen in der Kälte entsteht nach 1½–3 Stunden eine flockige Ausfällung, die das rotbraune Cytochrom c enthält. Bleibt aus-

¹ A. FUJITA, T. HATA, J. NUMATA und M. AJIKASA, Biochem. Z. 301, 376 (1939). — R. JUNOWICZ-KOCHOLATY und T. R. HOGNESS, J. biol. Chem. 129, 569 (1939). — V. R. POTTER und K. P. DUBOIS, J. biol. Chem. 142, 417 (1942). — A. GONELLA, Dissertation, Lausanne 1943. — O. ROSENTHAL und D. L. DRABKIN, J. biol. Chem. 143, 437 (1943).

Cytochrome c: Mittelwerte (10 Tiere) und Streuung ($s = \sqrt{\sum d^2/n - 1}$)

| | Myokard | Niere | Muskel | Gehirn | Leber |
|----------------------------|------------|------------|-------------|-----------|-------------|
| Kaninchen | 20,0 ± 2,6 | 5,8 ± 1,1 | 2,9 ± 0,6 ① | 3,0 ± 0,7 | 2,1 ± 0,7 ③ |
| Ratte | 30,1 ± 8,6 | 21,1 ± 5,9 | 7,4 ± 1,7 | 4,3 ± 1,0 | 7,4 ± 1,8 ③ |
| Ratte ¹ ② | 41,8 | 26,0 ④ | 12,6 | 5,9 | 5,4 |
| Ratte ² ② | 29,9 | 19,5 | 7,6 | 3,9 | 7,1 |
| Ratte ³ | 44,7 | 35,2 ④ | 9,8 | 8,2 | 22,3 |

① Rote Adduktorenmuskulatur
 ② Auf Molekulargewicht 13000 umgerechnet

③ 15 Stunden lange Hungerperiode
 ④ Nierenrinde (cytochromreicher)

nahmsweise die Lösung klar, so wird noch etwas Säure zugefügt und das Ganze nochmals in die Kälte gestellt, bis die Ausfällung eintritt. Längeres Stehenlassen in der Kälte ist erlaubt. Zuviel Säure führt zu einer störenden Aussalzung. Das Gemisch wird zentrifugiert und das Präzipitat in gerade so viel NaOH $\frac{1}{2}n$ aufgelöst, daß eine klare Lösung entsteht, deren Volumen (d) bestimmt wird.

4. Extinktionsbestimmungen und Berechnung. Nach Zufügen einer Spur von $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (Übergang von bräunlichem Ferricytochrome in das rosafarbene Ferrocyanochrome) und kräftigem Mischen wird die Extinktion (E) bei der Wellenlänge 550 m μ und 560 m μ bestimmt. Die Konzentration in mg % bezogen auf Frischgewebe wird berechnet nach der folgenden Formel:

$$\text{Cytochrome c in mg \%} = (E^{550} - E^{560}) \cdot 55,6 \cdot \frac{d \cdot b}{a \cdot c}.$$

Um den durch den Quarzsand verursachten Fehler zu korrigieren, muß von b das verwendete Sandvolumen, unter Abzug der von ihm aufsaugbaren Flüssigkeit, abgezählt werden.

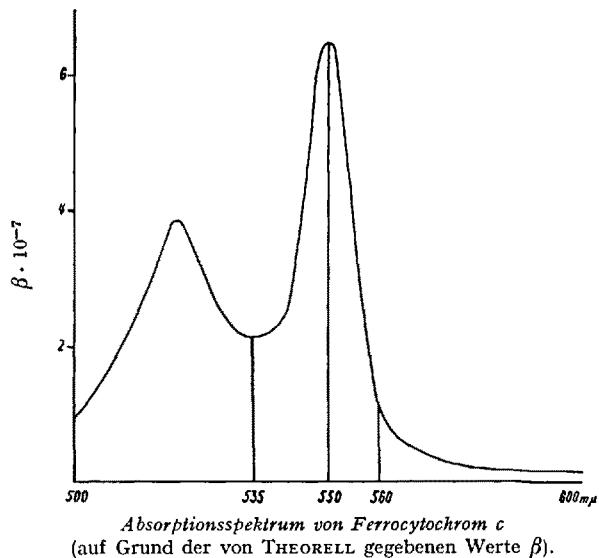
Diskussion

Das Gewebe darf maximal 20 Stunden im Kühlenschrank aufbewahrt werden. Nach dieser Zeitspanne sinkt der Cytochromegehalt. Wichtig ist die gründliche mechanische Eröffnung der Zellen. Wir haben mit Quarzsand⁴ wie auch mit wiederholtem plötzlichem Gefrieren gute Erfahrungen gemacht.

In der chemischen Extraktion folgen wir der ursprünglichen Methode von FUJITA⁵. Da das für die Extraktion maßgebende p_H vom Wasserzusatz kaum beeinflußt wird, braucht dieser nicht in einem bestimmten Verhältnis zu erfolgen.

Für die einwandfreie spektrophotometrische Bestimmung müssen die Pigmente, deren Absorptionsstreifen in den gleichen Spektralbereich fallen wie die Absorptionsstreifen von Cytochrome c, entfernt werden. Auch hierin folgen wir der japanischen Methode, indem wir den Großteil der Proteine in $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 25% aussäubern. Bei sorgfältiger Durchführung dieses Arbeitsganges wird Hämoglobin und Myoglobin restlos entfernt. Die erhaltene Lösung ist klar. Nur bei Verarbeitung von Leber und von Magenschleimhaut bleibt eine meist auch in der Endlösung auftretende Trübung, die auf Glykogen und Glykoprotein zurückgeführt wird⁶.

Für die Leber kann dies vermieden werden, indem man das Tier 15 Stunden hungrig lässt. Interessanterweise erhält man innerhalb gewisser Grenzen um so höhere Werte, je länger das Tier gehungert hat. Dies erklärt z. T. die außerordentlich verschiedenen Leberwerte der Literatur. Cytochromangaben für die Leber haben nur dann Vergleichswert, wenn die Dauer der Hungerperiode oder der Glykogenspiegel mit angegeben wird.



Absorptionsspektrum von Ferrocyanochrome c
 (auf Grund der von THEORELL gegebenen Werte β).

Früher haben wir Cytochrome c mit Aceton ausgefällt¹. Da damit nicht alles Cytochrome erfaßt wird, die Abtrennung des Präzipitates schwierig ist, und Acetatreste im nachfolgenden alkalischen Milieu Cytochrome zerstören können, verwenden wir in Anlehnung an die amerikanischen Arbeiten^{2,3} CCl_3COOH 8–12%. Bei höherer Konzentration fallen Ammonsalze aus, die ein einwandfreies photometrisches Arbeiten durch starke Trübung der Lösung verunmöglichen. Mit dem Cytochrome werden noch weitere Proteine gefällt, die der Behandlung mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ entgangen sind. Diese werden am einfachsten zusammen mit Cytochrome in genügend NaOH in Lösung gebracht. Bei geringem Cytochromegehalt kann die Verdünnung so groß werden, daß die Extinktionsdifferenz kaum mehr meßbar ist. In solchen Fällen wird die Endlösung eingeengt durch Auflösen des Präzipitates in nur 1–2 cm³ NaOH und Entfernen der nicht gelösten Begleitproteine durch zentrifugieren³. Geringe Verluste sind dabei nicht zu vermeiden.

¹ E. STOTZ, J. biol. Chem. 131, 555 (1939).

² V. R. POTTER und K. P. DUBOIS, J. biol. Chem. 142, 417 (1942).

³ M. W. CRANDALL und D. L. DRABKIN, J. biol. Chem. 166, 653 (1946).

⁴ C. LICHTENTHALER, Dissertation, Lausanne 1944.

⁵ A. FUJITA, T. HATA, J. NUMATA und M. AJIKASA, Biochem. Z. 301, 376 (1939).

⁶ O. ROSENTHAL und D. L. DRABKIN, J. biol. Chem. 143, 437 (1943).

¹ A. GONELLA, Dissertation, Lausanne 1943.

² V. R. POTTER und K. P. DUBOIS, J. biol. Chem. 142, 417 (1942).

³ O. ROSENTHAL und D. L. DRABKIN, J. biol. Chem. 143, 437 (1943).

Die Endlösung besitzt meist noch eine durch Verunreinigung, seltener durch Trübung bedingte Basisabsorption. Für die quantitative Bestimmung kann deshalb nicht die absolute Extinktion, sondern nur eine cytochrom-c-spezifische Extinktionsdifferenz verwendet werden. Die Extinktionsdifferenz zwischen Ferri- und Ferrocyanochrom^{1,2} hat den Nachteil, daß die optischen Eigenschaften der Lösung sich durch Zuführen des Reduktionsmittels oft verändern, und daß die Absorption der Ferriform stark p_H -abhängig ist³. Günstiger ist die Extinktionsdifferenz der Ferroform zwischen zwei verschiedenen Wellenlängen. GONELLA⁴ wählte 550 m μ und 560 m μ , ROSENTHAL und DRABKIN⁵ 550 m μ und 535 m μ (vgl. Absorptionskurve). Wir folgen der Methode von GONELLA. Sie besitzt den Vorteil der größeren Extinktionsdifferenz, und die näher beieinander liegenden Wellenlängen werden von einer allfälligen Basisabsorption weniger beeinflußt. Sie hat den Nachteil, daß der eine Meßpunkt in einer absteigenden Linie liegt, was ein sorgfältiges Arbeiten erfordert. Für die abgelesene Extinktionsdifferenz gilt:

$$E^{550} - E^{560} = (\epsilon_{\text{mol}}^{550} - \epsilon_{\text{mol}}^{560}) \cdot C_{\text{mol}}$$

Daraus ergibt sich für die Konzentration in mg%:

$$C_{\text{mg}\%} = \frac{E^{550} - E^{560}}{\epsilon_{\text{mol}}^{550} - \epsilon_{\text{mol}}^{560}} \cdot \text{Mol.-Gew.} \cdot 10^5$$

¹ V. R. POTTER und K. P. DUBOIS, J. biol. Chem. 142, 417 (1942).

² A. FUJITA, T. HATA, J. NUMATA und M. AJIKASA, Biochem. Z. 301, 876 (1939).

³ H. THEORELL und A. ÅKESSON, Science 90, 67 (1939); J. Am. Chem. Soc. 63, 1804 (1941).

⁴ A. GONELLA, Dissertation, Lausanne 1943.

⁵ O. ROSENTHAL und D. L. DRABKIN, J. Biol. Chem. 143, 437 (1943).

ϵ_{mol} wird durch Division der von THEORELL¹ gegebenen Absorptionskonstanten ($\beta^{550} = 6,47 \cdot 10^7$; $\beta^{560} = 1,1 \cdot 10^7$) mit 2,3 erhalten. Molekulargewicht = 13000². Die Berücksichtigung von Ausgangsmenge und Menge der Schlüßlösung sowie des weggelassenen Geweberückstandes führt zu der in der Methode angegebenen Schlüßformel. Es wird dabei die nur annähernd richtige Annahme gemacht, daß nach der Zentrifugation des Gewebebreies Cytochrome zwischen überstehender Flüssigkeit und Rückstand gleichmäßig verteilt ist.

Doppelbestimmungen ergaben maximal 10% von einander abweichende Werte. Dem Gewebebrei zugesetztes Cytochrome konnten wir im Mittel zu 90% zurückgewinnen. Die Verluste treten zum größten Teil bei der Hämoglobinentfernung auf, da die ausgefällte Proteinmasse offenbar geringe Cytochrommengen mitreißt.

Die aus der Tabelle ersichtlichen Unterschiede zwischen unseren Werten und den Werten anderer Autoren sind wohl nicht nur auf die Methodik, sondern auch auf die verschiedene Ernährung (Eiweiß) zurückzuführen.

A. PRADER und A. GONELLA

Medizinische Poliklinik der Universität Lausanne, den 26. Juli 1947.

Summary

Technique and discussion of a spectrophotometric method to determine cytochrome c. Normal values of rabbits and rats.

¹ H. THEORELL, Biochem. Z. 285, 207 (1936).

² H. THEORELL und A. ÅKESSON, Science 90, 67 (1939); J. Am. Chem. Soc. 63, 1804 (1941).

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Johann Heinrich Lambert

Mathematische Werke, 1. Bd.
(Arithmetik, Algebra, Analysis I)

Herausgegeben von ANDREAS SPEISER. 358 S., 8°
(Orell Füssli, Zürich 1946) (In Leinen Fr. 25.—)

Die Stiftung Schnyder von Wartensee hat es ermöglicht, durch die Herausgabe der gesammelten Werke des elsässisch-schweizerischen Mathematikers LAMBERT endlich einer Ehrenpflicht zu genügen. Die Opera LAMBERTS erstrecken sich von der Philosophie über Mathematik, Physik und Astronomie bis zur Architektur. Die Edition der Werke dieses universalen Gelehrten aus dem 18. Jahrhundert beginnt mit dem ersten Teil der Arbeiten aus Analysis, Arithmetik und Algebra.

Der Herausgeber hat in einer Vorrede die 16 zum Abdruck gebrachten Abhandlungen einer so weitgehenden Analyse unterzogen, daß dem Leser alle Voraussetzungen für das Verständnis der Ableitungen LAMBERTS geboten sind. Literaturzitate und Korrekturen zum Text werden in Marginalnoten gebracht, wobei die große Zahl der Rechenfehler, die LAMBERT begangen hat, auffällt.

Der vorliegende Band beginnt mit dem Eloge auf LAMBERT, die FORMEY 1777 in der Berliner Akademie gehalten hat. Außer der nachfolgenden Abhandlung, *Observationes variae in Mathesin puram*, welche die merkwürdige Formel LAMBERTS für die Potenzsummen enthält, die u.a. eine allgemeine Reihenentwicklung für die Wurzel von $x^m + px = q$ liefert, stammen die übrigen 15 Arbeiten aus dem vierbändigen Sammelwerk *Beyträge zum Gebrauche der Mathematik und deren Anwendung* (Berlin 1765 bis 1772). Sie gehören zum größten Teil der angewandten Mathematik an, wenn auch LAMBERT sich dabei immer von allgemeineren Gesichtspunkten leiten läßt. So sucht er in seinen *Anmerkungen und Zusätze zur Trigonometrie* nicht nur die Formeln der sphärischen Trigonometrie für die numerische Rechnung brauchbar zu gestalten, sondern sie nach einem — heute gruppentheoretisch formulierbaren — Prinzip zu klassifizieren. Besonders originell sind seine numerisch-graphischen Arbeiten über Quadratur und Rektifikation sowie über Interpolation. Mit reiner Mathematik befassen sich nur zwei Abhandlungen über Primzahlzerlegung — wobei LAMBERT die heute allgemein übliche Form der Teiler-tafeln angegeben hat — eine Arbeit über Kettenbrüche und eine über die allgemeine Auflösung der Gleichungen.