

Daß nun für die Penetrationsgeschwindigkeit des Kaliums nicht die Größe des Konzentrationsgefälles maßgebend ist, sondern der Funktionszustand dieser Zellmembran, zeigt folgende Beobachtung: Werden Leberschnitte eines Meerschweinchens, welchem etwa 3 h vor dem Töten ^{42}KCl s. c. injiziert worden ist, im Warburgapparat inkubiert, so zeigt das in den Leberzellen der Schnitte befindliche ^{42}K je nach der Art des suspendierenden Mediums ein verschiedenes Verhalten: Abbildung 2 gibt die durch Variation des Elektrolytmilieus erzielten Unterschiede wieder bei sonst konstanten Versuchsbedingungen. In einem kalziumhaltigen Medium kommt es selbst bei einem beträchtlichen Kalium-Gradienten von etwa 100 mmol nur zu einem geringgradigen Austritt von K aus den Schnitten. Wird dieser Gradient durch Erhöhung der Kaliumkonzentration außen auf 100 mmol (entsprechend der Konzentration im Innern der Zellen) ausgeglichen, so erfolgt ein intensiver Austausch von ^{42}K . Dieser kann durch Weglassen des Kalziums noch weiter verstärkt werden. Die Geschwindigkeit, mit welcher sich dieser Austausch vollzieht, ist beträchtlich und dürfte von gleicher Größenordnung sein wie der von KREBS¹ beobachtete Austausch bei Gehirnschnitten.

Stöße pro min / 10 mg Tr. g/cm³

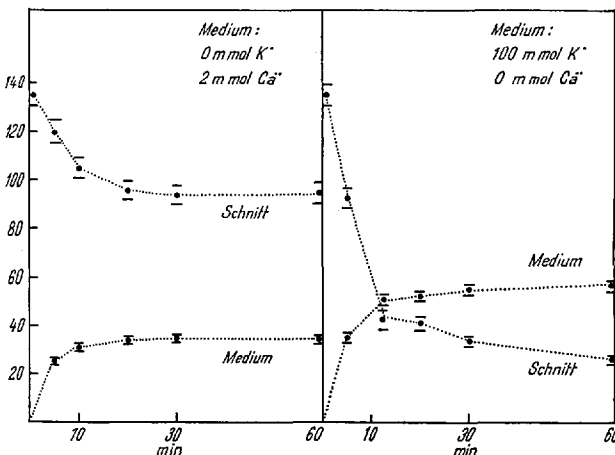


Abb. 2. Austausch bzw. Abgabe von ^{42}K enthaltenden Leberschnitten an das suspendierende Medium. Versuchsbedingungen wie bei Abbildung 1. Die angegebenen Kationenkonzentrationen beziehen sich auf den Versuchsbeginn. Die Aktivitätsbestimmung erfolgte nach Zentrifugieren des suspendierenden Mediums (15 min bei 3000 g) in 0,8 cm³ desselben, bzw. nach Homogenisierung der Schnitte (etwa 5-prozentig) in 0,8 cm³ der resultierenden Lösung. Impuls-zählung nach Vorschalten einer 2,3 mm dicken Aluminiumfolie vor das Fenster des Glockenzählrohrs zur Eliminierung der weichen, von ^{35}S herrührenden β -Strahlung: Die eingezeichneten Striche geben den bei der Zählung gemachten statistischen Fehler an ($\pm 0,67\sqrt{n}$). Die unter diesen Versuchsbedingungen bestimmte Halbwertszeit des verwendeten radioaktiven Materials (HARWELL) betrug 12,3 h.

Diese Beobachtungen sprechen dafür, daß die gleichsinnige Änderung von O_2 -Verbrauch und Quellungsgrad eines Gewebes, welche bei Variation verschiedener Versuchsbedingungen auftritt, eine indirekte ist. Die gemessene Atmungsgröße $\text{Q} \cdot \text{O}_2$ stellt ein Maß dar für den Ablauf eines energieliefernden Prozesses, welcher für die Aufrechterhaltung der hohen intrazellulären Kaliumkonzentration erforderlich ist. Diese zur Verfügung stehende Energiemenge bestimmt somit nach Erreichen eines Gleichgewichtes die im Schnitt vorhan-

dene Kaliummenge. Der Kaliumgehalt der Zellen diktiert nun seinerseits den Quellungsgrad der Organschnitte. Dieser Befund stellt eine experimentelle Bestätigung der von EPPINGER¹ formulierten Vermutung dar, wonach der Wasserreichtum kranker Zellen mit dem Ersatz des Kaliums durch eingewandertes Natrium zusammenhängen soll. Daß der Quellungsgrad des vorwiegend als Anion vorhandenen Zelleiweißes erhöht wird, wenn das schwächer hydratisierte Kaliumkation durch das stark hydratisierte Natrium ersetzt wird, stimmt mit dem sonstigen Verhalten der Hofmeister-schen Reihen überein².

Ein Aufquellen von Gewebsschnitten tritt im Warburgversuch somit dann auf, wenn der zur Verfügung stehende Energieumsatz nicht ausreicht, um das intrazellulär angereicherte Kalium zurückzuhalten oder um ein Einwandern von extrazellulär überwiegendem Natrium zu verhindern. Welcher dieser beiden Mechanismen zutrifft, muß offengelassen werden. Es ist indessen wahrscheinlich, daß es sich bei der für die Nervenfasern postulierten Natriumpumpe³ nicht um einen Sonderfall, sondern um einen auch bei anderen Zellen vorhandenen Mechanismus handelt.

Herrn Prof. A. VON MURALT sei für die Ermöglichung der Isotopenversuche, Herrn G. PORETTI, dipl. phys. ETH., für die Ausführung der Messungen herzlicher Dank ausgesprochen.

Herrn Prof. Dr. F. VERZAR sei für die Benützung des Flammenphotometers des physiologischen Instituts der Universität Basel hiermit bestens gedankt.

H. AEBI

Physiologisches Institut «Hallerianum» und Medizinisch-chemisches Institut der Universität Bern, den 15. Mai 1951.

Summary

In the case of liver slices it is shown that the relationship between the rate of respiration and the degree of swelling is not in every case a strictly reciprocal one, but there is a direct relationship between the potassium concentration and the degree of swelling of the slices. It is supposed that potassium, being rapidly exchanged between slice and suspending medium, is accumulated in the cell by some energy-requiring mechanism, as a measure of which the degree of respiration may be taken. Therefore this relationship between respiration and swelling is an indirect one, both factors influencing or being influenced by the potassium concentration of the cell.

¹ H. EPPINGER, *Permeabilitätspathologie* (Springer-Verlag, Wien 1949), besonders S. 194–199.

² R. HÖBER, *Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe*, (Stämpfli, Bern 1947), S. 319–357.

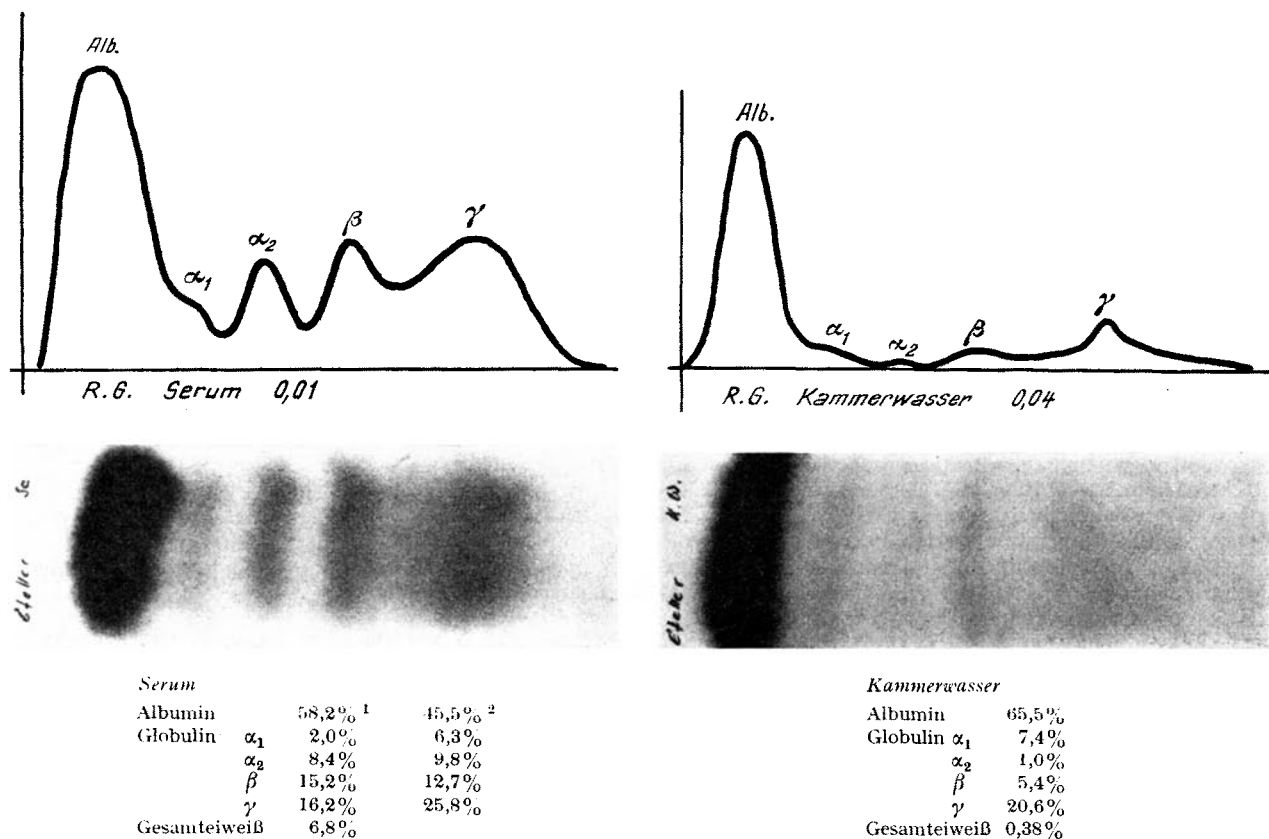
³ A. L. HODGKIN und B. KATZ, *J. Physiol.* 108, 37 (1949). – A. L. HODGKIN und A. F. HUXLEY, *Mitt. Int. Physiol. Kongreß*, 1950.

Elektrophorese pathologischen menschlichen Kammerwassers

Quantitative Eiweißbestimmungen im menschlichen Kammerwasser waren schon Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Bisher ist es aber nie gelungen, im Einzelkammerwasser die verschiedenen Eiweißfraktionen darzustellen. VON SALLMANN¹ konnte in gesammeltem konzentriertem Kammerwasser von 80 Kaninchen (!) elektrophoretisch Albumin und die verschiedenen Globulinfraktionen nachweisen.

¹ L. VON SALLMANN, *Arch. Ophth.* 40, 279 (1948).

¹ H. A. KREBS, L. V. EGGLESTON und C. TERNER, *Biochem. J.* 47, 34 P (1950).



¹ Korrigiert ² Nicht korrigiert

Patient R. G., 60jährig, chronische Uveitis-Thc. beider Augen.

Abb. 1.

Vor kurzem haben nun GRASSMANN, HANNIG und KNEDEL¹ ein Verfahren zur elektrophoretischen Bestimmung der Serumproteine auf Filtrierpapier beschrieben. Diese Methode weist gegenüber der klassischen Elektrophorese nach TISELIUS² und auch der später von CREMER und TISELIUS³ angegebenen Methode auf Filtrierpapier verschiedene wesentliche Vorteile auf. So ist die benötigte Eiweißmenge mit 0,4 bis 1 mg (was 1/100 cm³ Serum entspricht) sehr gering, weshalb man von einer ausgesprochenen Mikromethode sprechen kann.

Was die Technik und Apparatur betrifft, verweisen wir auf die oben erwähnte Arbeit von GRASSMANN, HANNIG und KNEDEL¹. Bei unseren Kammerwasseruntersuchungen zeigte es sich, daß man mit 0,01 cm³ meistens nicht auskommt, sondern daß man etwas größerer Mengen bedarf. Wir tragen meist 0,04 cm³ Kammerwasser auf den vorher gleichmäßig angefeuchteten Filtrierpapierstreifen auf, wobei wir die Flüssigkeit aus einer Kapillarpipette ausfließen lassen.

Wir stellten zunächst fest, daß das Amidoschwarz 10 B, welches zur Sichtbarmachung der verschiedenen Fraktionen im Filterstreifen dient, Serumverdünnungen von 0,05% noch deutlich anfärbt. Das normale menschliche Kammerwasser hat einen durchschnittlichen Eiweißgehalt von 0,01 bis 0,02% (FRANCESCHETTI und WIELAND⁴ und KRONFELD⁵), so daß es durch das Amidoschwarz noch nicht zur Darstellung gebracht werden

kann. Durch vorsichtiges Eindampfen im Vakuum läßt sich aber die notwendige Konzentration von 0,05 bis 0,1% erreichen. Hierzu bedarf es allerdings etwas größerer Mengen, als man sie meist bei der Kammerpunktion normaler Menschen erhält. Im normalen Kaninchenkammerwasser ist uns auf diese Weise bereits die Darstellung der Albumine und verschiedener Globuline gelungen. Dagegen gelingt die Fraktionierung der Proteine ohne weiteres in pathologischen menschlichen Fällen (akuter und chronischer Uveitis), wo der Eiweißgehalt meist um das 10- bis 100fache erhöht ist¹ (siehe Abb. 1).

Zu Vergleichszwecken haben wir 10 Sera geprüft, die bereits nach TISELIUS untersucht worden waren. Wir konnten feststellen, daß mit dem von uns verwendeten Kolorimeter jede Eiweißfraktion einen bestimmten «Färbeindex» hat und daher durch einen von Fraktion zu Fraktion verschiedenen Faktor korrigiert werden kann (siehe Abb. 2). Die Differenzen werden kleiner, wenn man das Serum 1:1 mit *aqua destillata* verdünnt. Sie liegen dann praktisch innerhalb der Fehlergrenzen der Methode.

Die Auswertung der erhaltenen Kurven ist sowohl eine qualitative als auch eine quantitative, indem man mit Hilfe von Eichkurven aus Serumverdünnungen den Gesamteiweißgehalt von Serum und Kammerwasser in einem Tropfen kolorimetrisch bestimmen kann.

Ausführliche Mitteilung folgt später.

Herrn Dr. G. RIVA (Med. Poliklinik der Universität Bern) danken wir für die freundliche Überlassung der Sera.

R. WITMER

Universitätsaugenklinik Bern, den 23. April 1951.

¹ M. AMSLER und FL. VERREY, *Ophthalmologica* 105, 144 (1934).

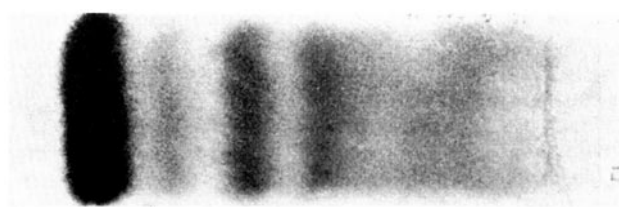
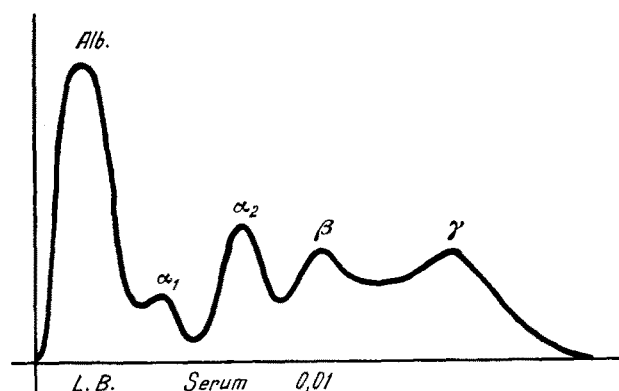
¹ W. GRASSMANN, K. HANNIG und M. KNEDEL, *Dtsch. Med. Wschr.* 76, 333 (1951).

² A. TISELIUS, *Nova acta reg. soc. sci. Upsaliensis* 7, 4 (1930).

³ H. D. CREMER und A. TISELIUS, *Biochem. Z.* 320, 293 (1950).

⁴ A. FRANCESCHETTI und Th. WIELAND, *Arch. Aug.* 99, 1 (1928).

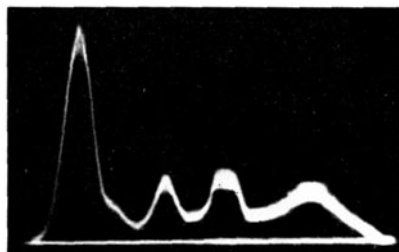
⁵ P. C. KRONFELD, *Amer. J. Ophthal.* 24, 51, 264, 1121 (1941).



Papierelektrophorese

Albumin	38,7% *	48,1% **
Globulin		
α_1	5,6%	3,2%
α_2	15,0%	12,9%
β	14,8%	15,0%
γ	26,1%	20,8%

* Nicht korrigierte Werte. ** Korrigierte Werte.



Tiselius-Apparatur

Albumin	45,5%
Globulin	
α_1	4,1%
α_2	11,4%
β	16,8%
γ	22,2%

Patient L. B., 53jährig, primär-chronischer Gelenkrheumatismus.

Abb. 2.

Résumé

La méthode d'électrophorèse sur papier filtre décrite par GRASSMANN, HANNIG et KNEDEL nous permet de fractionner de très petites quantités d'albumine de 0,4 à 1 mg. Il est possible de déterminer les différentes fractions d'albumine et de globulines contenues dans l'humeur aqueuse de cas pathologiques chez l'homme où la teneur en albumine est légèrement augmentée. Dans l'humeur aqueuse normale l'albumine ne peut être démontrée par électrophorèse qu'après condensation.

Dosage polarographique de la gonadotrophine chorale de la femme enceinte

Partant de l'idée que la réaction de BRDICKA¹ pourrait servir au dosage des gonadotrophines, nous avons étudié le comportement polarographique d'une préparation de gonadotrophine chorale (HGC) obtenue à partir de l'urine de femme enceinte (Ciba, op. 542, 400 unités internationales (UI) par milligramme de substance). Après divers essais, nous avons observé que la préparation hormonale dissoute dans KCl (N/2) donnait une vague caractéristique à un potentiel voisin de 1,85–1,9 volts. Nous avons retrouvé des vagues en tous points comparables à partir d'échantillons d'urine d'homme ou de femme en bonne santé ou atteints d'affections diverses. Ces derniers résultats feront l'objet d'une publication ultérieure.

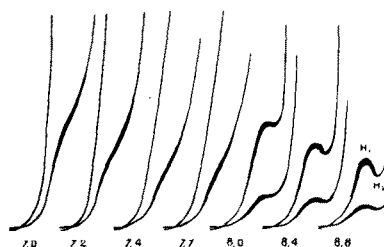


Fig. 1.

L'allure générale de la vague polarographique diffère suivant le pH du milieu. Une série d'essais en milieu tamponné par les phosphates à la concentration M/12 a montré qu'en dessous de pH 7,7 la vague caractéristique est formée d'une inflexion simple. Pour une même quantité de HGC, la hauteur de la vague diminue très rapidement entre pH 6,2 et pH 7,7. Simultanément, elle s'efface progressivement (fig. 1). A partir de pH 8,0, une nouvelle vague apparaît brusquement. Elle présente la particularité d'être à double inflexion. La hauteur H_1 de la première inflexion diminue rapidement au fur et à mesure que le pH devient plus alcalin; dès le pH 9,0, elle tend à rester constante. La variation de hauteur de la double vague en fonction du pH pour une quantité constante de HGC est accompagnée simultanément d'une accentuation de la différence entre les deux points H_1 et H_2 (fig. 2).

Un grand nombre de mesures de la hauteur H_1 en milieu tamponné à pH 8,5 pour des quantités croissantes de HGC montre que cette hauteur augmente proportionnellement suivant une courbe qui n'est pas une droite, mais qui tend vers une valeur limite (fig. 3). On retrouve donc ici un phénomène semblable à celui décrit pour le dosage polarographique des composés sulphydrylés en présence d'ions Co^{++1} .

Les chiffres portés dans la figure 3 ont été lus directement sur l'échelle du galvanomètre de mesure de notre appareil. On pourrait évidemment mesurer la hauteur de la vague sur le papier de l'enregistreur. Ce procédé est plus précis. Pour augmenter la précision des mesures de H_1 par lecture directe, nous avons choisi comme milieu standard la solution de KCl (N/2) tamponnée à pH 8,5 qui, d'une part, favorise l'apparition de la double vague et, d'autre part, donne une hauteur convenable de

¹ R. BRDICKA, Collect. Czechoslovak Chem. Commun. 5, 112, 148 (1933); Biochem. Z. 272, 104 (1934).