

färbt; sie löst sich in der Fettphase der Parietalzelle und entzieht das HCl dem Lecithinhydrochlorid. Das Hydrochlorid des Acridins ist dann als Salz wasserlöslich und geht in die Wasserphase über, in der es im Ultraviolettlicht grün fluoresziert.

Schliesslich sei darauf hingewiesen, dass auch die Richtung des elektrischen Oberflächenpotentials darauf hindeutet, dass keine freie Salzsäure in der Tiefe der sezernierenden Schleimhaut des Magens vorhanden ist⁴.

Ähnlich verhält es sich mit der negativ verlaufenden Cl⁻-Reaktion nach LISON⁵ und anderen; es wurden keine freien Chlorionen im wässrigen Zytoplasma der Parietalzelle nachgewiesen.

Der Befund, den BRADFORD und DAVIES bei ihren Indikatorproben einwandfrei erhalten haben, deutet also im Verein mit den anderen Untersuchungsergebnissen darauf hin, dass nicht im Zytoplasma freie Salzsäure, sondern in den Lipoid-Lipiden der Parietalzelle ein Precursor, das Lecithinhydrochlorid, vorkommt. Die um die pericanaliculären Partien des Zytoplasmas der Parietalzelle nachgewiesene freie Salzsäure dürfte ein Artefakt sein, gebildet durch Wechselwirkung der Indikatoren (AAT bzw. Acridin) mit dem physiologischen Precursor im diphasischen System der Magenschleimhaut. – Damit kommt es zum Ausgleich aller bisher sich widersprechenden Untersuchungsbefunde.

Es darf nicht übersehen werden, dass das Leben der Zelle gefährdet ist, wenn freie Salzsäure im Zytoplasma der Parietalzelle entsteht. Die Eiweisskörper des Zytoplasmas kommen als Proteinate vor; es sind Anionen, die in der Hauptsache an Kalium gebunden sind. Sollte nun der nach BRADFORD und DAVIES physiologische, nach unserer Meinung patho-physiologische Fall eintreten, dass in irgend einer Weise im Zytoplasma Salzsäure entsteht, so wird letztere sofort mit dem Kalium des Eiweisskörpers reagieren, wobei zunächst isoelektrisches Protein entsteht, das zur Präzipitation kommt. Beim Weitergehen des Prozesses bildet sich aus dem koagulierten Eiweiss Proteinhydrochlorid, in dem das Protein in umgekehrter Weise nun als Kation fungiert. Es dürfte klar sein, dass keine Zelle einen derartigen Eingriff überleben wird.

Dieser Hinweis erscheint uns wichtig, da die Deutung von BRADFORD und DAVIES zunehmende Beachtung findet⁶.

E. SOLMS und J. BRAS

Aus den Laboratorien Vondelingenplaat, Rotterdam, den 30. November 1955.

Summary

BRADFORD and DAVIES did not succeed in demonstrating with their indicator-experiments that free hydrochloric acid is formed without a precursor in the oxyntic cells of the gastric mucosa. The free hydrochloric acid, as shown by them, is formed as an artefact owing to the action of the indicator.

⁴ Siehe H. REIN, *Einführung in die Physiologie des Menschen* (Springer-Verlag Berlin 1941), S. 205.

⁵ Siehe B. ROMEIS, *Mikroskopische Technik* (Leibniz-Verlag, München 1948), § 2064.

⁶ Siehe H. REIN und M. SCHNEIDER, *Einführung in die Physiologie des Menschen* (Springer-Verlag Berlin 1955). – B. FLASCHEN-TRÄGER und E. LEHNARTZ, *Physiologische Chemie* (Springer-Verlag Berlin 1954).

PRO LABORATORIO

— —

Investigation of the Circulation with Fluorescent Substances

A New Technique

Fluorescent substances have been used in the investigation of the circulation by SCHLEGEL¹, ALGIRE *et al.*², MOSES *et al.*³. They employed Thioflavine-S (methyl dehydrotio-p-toluidine-sulphonate) or a polymer of it (Vasoflavine). The vessels were examined either *in vivo* (ALGIRE *et al.*²) or *post mortem* (freeze-dried specimens: SCHLEGEL *et al.*¹, or prepared in glycerin: MOSES *et al.*⁴, SCHLEGEL and MOSES⁵).

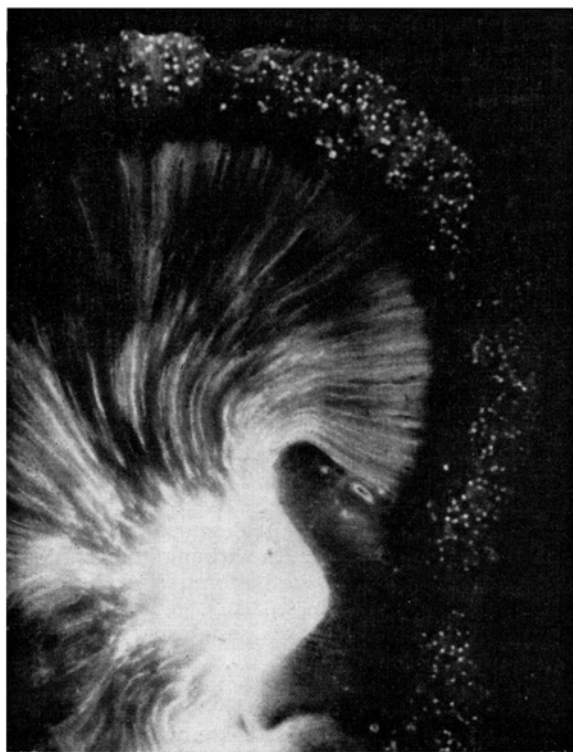


Fig. 1. — Kidney from a rabbit weighing 1 kg. The animal had received 80 mg Vasoflavine 20 s before it was killed. The glomeruli and the vessels in the medulla are readily recognized. Photographic plate: Gevaert superchrome 32°. Enlargement $\times 5$.

In the investigation of intra-osseous circulation (BRODIN⁶) the above mentioned methods were found unsuitable, and a new technique was devised.

Method and Material. The fluorescent substance is injected intravenously into the experimental animal (rabbit), which is killed about 20 s afterwards. The or-

¹ J. U. SCHLEGEL, *Anat. Rec.* 105, 433 (1949).

² G. H. ALGIRE and J. U. SCHLEGEL, *J. cell. comp. Physiol.* 35, 95 (1950).

³ J. B. MOSES and J. U. SCHLEGEL, *Anat. Rec.* 114, 149 (1952).

⁴ J. B. MOSES, A. J. EMERY, and J. U. SCHLEGEL, *Proc. Soc. exper. Biol. med.* 77, 233 (1951). – J. B. MOSES and J. U. SCHLEGEL, *Anat. Rec.* 114, 149 (1952).

⁵ J. U. SCHLEGEL and J. B. MOSES, *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 74, 832 (1950).

⁶ H. BRODIN, *Acta orthop. Scand.* [Suppl.] 20, (1955).

gans to be studied are removed without delay and placed in a freezing mixture with a temperature of about -80°C (96% alcohol + carbon dioxide ice in an isolated vessel). The organs are then taken out of the mixture in the cold room (temp. -10°C to -15°C) and wiped off, after which they are planed to desired depth. The smooth, planed surface, which is shiny, is photographed with the use of a suitable filter in ultraviolet light.

Examples

(1) *Parenchymatous tissue* (rabbit's kidney). Use was made of Vasoflavine (Gurr, England), which persists a fairly long time in the blood vessels (Fig. 1).

(2) *Partly fibrous tissue* (rabbit's eye). Vasoflavine (Fig. 2).

(3) *Hard and soft tissue* (lower leg of rabbit). Sodium 3-oxypyrene-5,8,10-trisulphonate (Bayer, Germany). The substance is acidic and shows a strong affinity for bone tissue. It readily diffuses out through the blood vessels (Fig. 3).

Comments. The method described appears to be useful in the investigation of the circulation in both hard and soft tissue. It is simple and quicker than the deep freezing method. Freezing of the isolated organs to be studied prevents the diffusion of the fluorescent substance, an advantage not offered by the preparation of the parts in glycerin. However, the method has some disadvantages: if the specimen contains bone tissue, the blade of the plane will soon become blunt, and if the cold room is small and the relative humidity therefore high, there is a risk of ice crystal formation on the surface of the specimen.

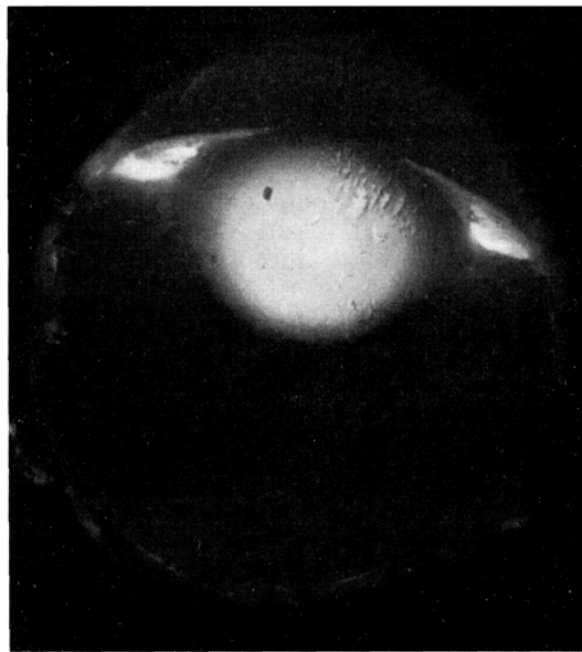


Fig. 2.—Eye of the same rabbit as in Figure 1. The fluorescence of the lens is auto-fluorescence. It appears to be more pronounced in the central part of the lens. Vasoflavine fluorescence is seen in the ciliary body and, though faintly, in the chorioid. No fluorescence is seen in the anterior or posterior chamber. Photographic plate: Gevaert superchrome 32°. Enlargement $\times 4$.



Fig. 3.—Proximal part of a tibia of a rabbit weighing 1 kg. The animal had received 100 mg of sodium-3-oxypyrene-5,8,10-trisulphonate intravenously 20 s before it was killed. Fluorescence is seen in and around some muscle arteries, in and adjacent the epiphyseal cartilage, and in the endosteal and periosteal surface of the bone. Photographic plate: Gevaert superchrome 32°. Enlargement $\times 3$.

and slightly coagulant. Oxypyrene (like fluorescein) readily permeates the vessel wall.

The method described was used in the investigation of the blood flow to the metaphyseal region of the tibia of the rabbit (BRODIN⁷) and of the nutrition of cartilage (BRODIN⁷). It is probably also useful in the experimental study of transplants (bone, vessel, skin), fractures, circulatory disturbances and, with a substance capable of permeating the vessel wall, possibly also for the investigation of the circulation of the aqueous humour.

H. BRODIN

Orthopaedic Clinic, University of Lund, January 2, 1956.

Zusammenfassung

Es wird eine neuartige Methode zum Studium der Blutzirkulation in derbem und weichem Gewebe beschrieben. Ein fluoreszierender Stoff wurde intravenös injiziert, das Präparat tiefgefroren, mit einem Hobel geglättet und dann fotografiert.

⁷ H. BRODIN, Acta orthop. Scand. 24, 177 (1955).

The fluorescent substance should preferably be non-toxic, it should not permeate the vessel wall, it should be homogeneous and not coagulant. Vasoflavine is labile