

Elektrolytgehalt von Endo- und Perilymphe in den einzelnen Schneckenwindungen des Meerschweinchens ohne und mit Stimulation

Natrium- und Kaliumbestimmungen in der Endolymphe beim Meerschweinchen¹, bei der Katze² und beim Menschen³ ergaben einen sehr hohen Kalium- und einen geringen Natriumgehalt. Die Endolymphe hat also in bezug auf diese Elektrolyte einen intrazellulären Charakter, während die Perilymphe, die in ihrer Zusammensetzung dem Liquor cerebrospinalis gleicht, von extrazellulärem Typus ist.

Die üblichen Methoden der Gewinnung mittels Punktionen lassen zu viele Fehlerquellen offen, und einzelne Windungen konnten bis jetzt nicht getrennt untersucht werden. Mit einer Gefriermethode können die Schwierigkeiten der Punktion umgangen und zusätzlich chemische Abläufe zu einem ganz bestimmten Zeitpunkt untersucht werden. Der guillotinierte Meerschweinchenkopf, dessen Mittelohrräume durch einen Fräsenchnitt freigelegt werden, wird in flüssigem Stickstoff (-180°C) kältefixiert. Da gefrorenes Wasser grösseren Raum beansprucht als in flüssigem Zustand, ist es notwendig, die Unterkühlung durch Eintauchen in Isopentan von zunehmendem Kältegrad während Sekundenbruchteilen einzuleiten. Im Kühraum von -15°C wird die knöcherne Cochleakappe abgefräst; die gefrorenen Peri- und Endolympharäume werden dann unter dem Mikroskop präpariert und gesammelt. Wurde vorher Na-24 oder K-42 injiziert, um die Austauschgeschwindigkeit der radioaktiven Elektrolyte zu erfassen ($300 \mu\text{c}/\text{Meerschweinchen}$, das heisst etwa $0,6-0,7 \mu\text{c}/\text{g Tiergewicht}$ 4-6-12 h vor dem Tod in isotonischer Lösung intraperitoneal), konnten in dem gesammelten Material zuerst die Impulse/min ge- cpm/mg messen und danach flammenphotometrisch der Gesamtgehalt an Natrium und Kalium bestimmt werden.

Versuchsanordnung. Serien von 15-20 Meerschweinchen, das heisst 30-40 Ohren, wurden a) ohne Tonereiz, b) nach Beschallung mit 2000 Hz und 140 db während 4 h – was praktisch einer Ertaubung entspricht – wie oben beschrieben getötet, präpariert und chemisch ausgewertet.

Ergebnisse. 1. Unbeschalltes Ohr

a) **Verhalten von Kalium.** Während die Perilymphe der Scala vestibuli in allen Windungen ungefähr gleich viel Kalium enthält ($17 \pm 2 \text{ meq/l}$), beträgt der Kaliumwert in der Basalwindung der Scala tympani nur die Hälfte bis ein Drittel, erreicht aber in der 2.-4. Windung wieder die Werte der Scala vestibuli.

Diese Unterschiede kommen auch mit dem markierten K-42 zum Ausdruck. Außerdem scheint die Austauschmenge in beiden Perilymphräumen von der ersten zur zweiten Windung zuzunehmen.

Die Endolymphe enthält in allen Windungen ungefähr gleich viel Kalium; auch hier ist der K-42-Austausch in der zweiten Windung lebhafter als in der ersten.

b) **Verhalten von Natrium.** Die Natriumwerte der Scala vestibuli entsprechen denjenigen der Scala tympani in derselben Höhe. Zwischen den einzelnen Windungen besteht allerdings ein Unterschied, indem die Werte von basal nach apikal deutlich abnehmen, so dass zum Beispiel in der dritten Windung der Scala vestibuli der Natriumgehalt nur noch zwei Drittel beträgt (70 meq/l) im Vergleich zur Basalwindung (105 meq/l).

Die Austauschwerte an Na-24 lassen weder von einer Windung zur anderen noch zwischen den beiden Perilymphräumen einen Unterschied erkennen.

Der Natriumgehalt der Endolymphe scheint in allen Windungen unverändert zu sein (58 meq/l), während die Na-24-Werte von basal nach apikal deutlich zunehmen.

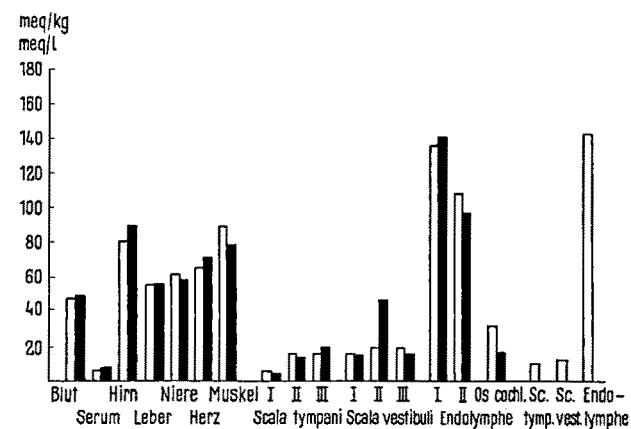


Fig. 1. Kaliumverteilung in Peri- und Endolymphe einzelner Windungen sowie in einigen Organen ohne und mit Stimulation von 2000 Hz, 140 db während 5 h.

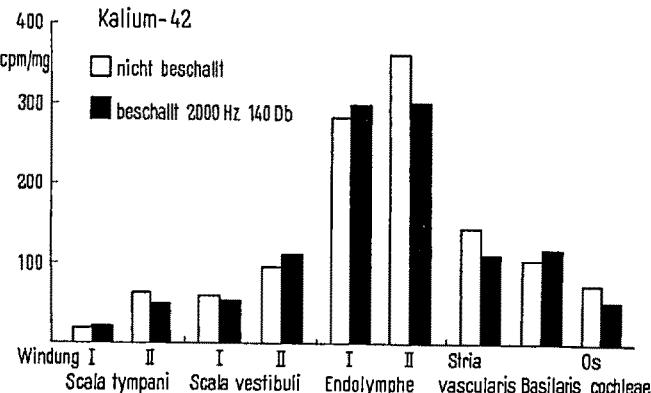


Fig. 2. Verteilung von K-42 in Peri- und Endolymphe 5 h nach intraperitonealer Injektion von K-42 ohne und mit Stimulation von 2000 Hz, 140 db während 5 h. Die Isotopenmessung und Berechnung führte Dr. R. A. COLLET, Isotopenlabor, Zentrallaboratorium des Kantonsspitals Genf, durch.

Die Arbeiten wurden mit Unterstützung des Schweizerischen Nationalen Forschungsfonds durchgeführt.

Technische Hilfe leisteten uns in dankenswerter Weise Dr. R. A. COLLET, Isotopenlabor, Zentrallaboratorium des Kantonsspitals, und Dr. FISCHER (Kältekammer von -15°C), Centre de transfusion, Kantonsspital Genf.

¹ C. A. SMITH, O. H. LOWRY and M. L. WU, Laryngoscope 64, 141 (1954).

² L. CITRON, D. EXLEY and C. S. HALLPike, Bull. 12, 101 (1956).

³ S. RAUCH und A. KÖSTLIN, Pract. Oto-rhino-laryng. 20, 287 (1958).

⁴ Gegenwärtige Adresse: Department of Biochemistry, University of Oxford (England).

2. Nach Beschallung mit 2000 Hz und 140 db während 4-6 h

a) *Verhalten von Kalium.* Am auffallendsten ist der ungefähr dreifache Anstieg des Kaliumgehalts in der zweiten Windung der vestibulären Perilymphe, das heisst in Höhe der Tonperzeption, während die Kaliumwerte weder in der ersten, dritten und vierten vestibulären Windung noch in einer der tympanalen Windungen nennenswerte Änderungen erfahren.

Dieser auffallende Unterschied kommt mit K-42 nicht zur Darstellung.

Der totale Kaliumgehalt der Endolymph wie der K-42-Austauschwert nehmen in der zweiten Windung leicht ab (15-20%), während in den übrigen Windungen keine Veränderungen zu erkennen sind.

b) *Verhalten von Natrium.* Der Natriumgehalt nimmt in beiden Perilymphräumen nach Beschallung leicht zu, apikal stärker als basal. Wesentlich ausgesprochener sieht man diese Zunahme in den Na-24-Austauschwerten, und zwar sowohl in der Peri- wie in der Endolymph (durchschnittlich um 15% in der 1. Windung, um 20-40% in der 2. Windung, 40-60% in der 3. und über 60% in der 4. Windung).

Die übrigen Partien der Cochlea, die Basalmembran und die knöcherne Kappe zeigen gleichgerichtete Veränderungen mit Ausnahme der Stria vascularis, deren Na-24-Austauschwerte selbst abnehmen.

Folgerungen. Trotz der Diffusionsmöglichkeiten ergeben sich erstaunlich grosse Unterschiede einerseits zwischen der tympanalen und vestibulären Perilymphe, andererseits zwischen den verschiedenen Windungen. Dieser Befund, erhoben im Ruhezustand, wird nach Einton-Reizung noch augenfälliger.

Da nach histologischen Befunden Töne von 2000 Hz in der zweiten Windung perzeptiert werden, finden die chemischen Veränderungen in der zweiten Windung nach Ertaubung eine Erklärung.

Ausserdem scheinen sowohl die höheren Kaliumwerte in der vestibulären Perilymphe, die in der Basalwindung besonders hervortreten, wie auch ihr deutlich erhöhter Kaliumgehalt in der zweiten Windung nach Beschallung ein Hinweis zu sein, dass die Reissnersche Membran zu gegebener Zeit zum mindesten partiell semipermeabel ist.

Weit interessanter wird es sein, den Effekt zu verfolgen, den ein Einzelton von verschiedener Intensität an chemischen Veränderungen in der Peri- und in der Endolymph auslöst.

S. RAUCH⁴

Zentrallaboratorium des Kantonsspitals Genf (Schweiz),
30. Mai 1960.

Summary

A freezing method is described which permits the measurement of electrolytes and enzymes in the peri- and endolymph from a single turn of the cochlea of guinea pig at a known time. The perilymphs of the scala vestibuli and the scala tympani are different, especially in the first basic turn. This difference may be produced by a partial semipermeability of the Reissner's membrane. After producing deafness by a sound of frequency 2000 c/s, the potassium (the total potassium level detected chemically and by the use of potassium-42) increases in the perilymph of the second turn only, and decreases slightly in the endolymph of the same turn. In the other turns, the potassium does not change.

This method permits the analysis of chemical changes due to the stimulus of single sounds.

The Effect of Methyl Alcohol on the Conversion of Thiamine to Thiochrome¹

Oxidation products of thiamine have been studied extensively by BARGER *et al.*², JANSEN,³ ZIMA and WILLIAMS⁴, SYKES and TODD⁵, and MIZUHARA and ARATA⁶. The major product of alkaline oxidation of thiamine by $K_3Fe(CN)_6$ is thiochrome. JANSEN³ using the thiamine-thiochrome conversion as a quantitative determination of thiamine, suggested the addition of CH_3OH to the oxidation mixture to prevent «harmful» action of the excess ferricyanide. Later investigators apparently omitted CH_3OH but obtained only a 65-67% conversion⁷⁻⁹. Since no reliable data (except JANSEN's work in 1936) on the influence of CH_3OH on the thiamine-thiochrome conversion seemed to be available, studies were made to determine the effect. The data indicate that addition of 25% (vol/vol) CH_3OH to the alkaline oxidation mixture results in better than 90% conversion in the concentration range usually employed.

Procedures. Standard stock solutions contained 100 mg% thiamine hydrochloride (Merck and Company) or 100 mg% thiochrome (Nutritional Biochemicals) in 0.1N HCl. These were diluted with 0.1N HCl to give 0.1, 0.2, 0.4, 1.0, 200 and 1000 μ g/ml of solution.

To 1 ml samples of the diluted 0.1N HCl thiamine solutions were added 0 to 3 ml of redistilled CH_3OH , 3 ml of 0.3% $K_3Fe(CN)_6$ in 15% NaOH and distilled water to make a total of 8 ml of solution. The same reagents were added to the thiochrome solutions. 15 ml of redistilled isobutanol were then added and the mixtures shaken vigorously for 1½ min. Blanks were run by omitting $K_3Fe(CN)_6$ from the reaction mixture. After centrifuging at 500-600 r.p.m. for 45 sec, 10 ml of the top isobutanol layer (or an appropriate dilution of this layer with isobutanol) was pipetted into a 19 × 105 mm cuvette and the fluorescence measured in a Coleman photofluorometer using 0.01 mg% quinine sulfate in 0.1N H_2SO_4 as a reference standard. Thus the fluorescence of thiochrome derived from a known amount of thiamine in the reaction mixture was compared to the fluorescence of a comparable amount of thiochrome treated with the same reaction mixture. To investigate the validity of this procedure, fluorometric readings of thiochrome solutions were compared as follows:

(a) Thiochrome dissolved in the reaction mixture as described above, containing 0 and 2 ml respectively of CH_3OH and extracted into isobutanol by shaking for 1½ min.

(b) Thiochrome dissolved directly in isobutanol.

The results of this series are given in Table I. The data indicate a somewhat lower recovery of thiochrome when CH_3OH is omitted from the reaction mixture. However,

¹ This research was supported specifically by the Nutrition Foundation Inc. (Grant No. 257), also generally by Office of Naval Research and the Army Surgeon General (Contract NONR-1623), by National Institutes of Health (Grant A-566) and by the University of Notre Dame.

² G. F. BARGER, F. BERGEL, and A. R. TODD, Ber. dtsch. chem. Ges. 68, 2257 (1935).

³ B. C. P. JANSEN, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 55, 1046 (1936).

⁴ O. ZIMA and R. R. WILLIAMS, Ber. dtsch. chem. Ges. 73, 941 (1940).

⁵ P. SYKES and A. R. TODD, J. chem. Soc. 1, 534 (1951).

⁶ S. MIZUHARA and H. ARATA, Chem. Abstr. 47, 6950 (1953).

⁷ R. T. CONNOR and G. J. STRAUB, Ind. eng. Chem., Anal. Ed. 13, 380 (1941).

⁸ E. EGANA and A. P. MEIKLEJOHN, J. biol. Chem. 141, 859 (1942).

⁹ J. W. FERREBEE and G. A. CARDEN, J. lab. clin. Med. 25, 1320 (1940).