

Zur chemischen Kenntniss des Embryo.

Von

Dr. K. Raske.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 11. April 1886.)

I. Ueber die chemische Zusammensetzung der Gewebsflüssigkeit (Lymphe) des Embryo.

Da die thierischen Gewebe derartig mit Lymphe durchsetzt sind, dass es unmöglich ist, dieselbe daraus völlig zu entfernen, so ist es klar, dass zum vollen Verständniss der chemischen Zusammensetzung der Gewebe die Kenntniss der Zusammensetzung der Lymphe nothwendig ist. Was für das erwachsene Thier gilt, hat natürlich auch für den Embryo Geltung, nur scheint bei diesem die Kenntniss der Lymphe noch nothwendiger zu sein. Denn es ist bekannt, dass die embryonalen Organe einen ausserordentlich hohen Wassergehalt haben, welcher auf ihrem hohen Gehalt an Organlymphe beruht. Es dürfte indessen auf den ersten Blick sehr schwer erscheinen, embryonale Lymphe in einer für die Untersuchung hinreichenden Menge zu erhalten. Hier kommt uns indessen eine von Kossel gemachte Beobachtung zur Hilfe. Zerkleinert man nämlich die Muskeln von frischen Rindsembryonen grob und bringt sie auf ein Colirtuch, so tropft langsam eine schwach röthlich gefärbte, wenig getrübe Flüssigkeit ab, und nach etlichen Stunden hat sich in dem darunter gestellten Gefäss eine ansehnliche Menge dieser Flüssigkeit angesammelt, die nur durch sehr geringe Quan-

itäten Blut verunreinigt ist und von den vorhandenen Blutkörperchen durch Filtration getrennt werden kann.

Die Präparation der Muskeln erfordert selbstverständlich einige Sorgfalt, insbesondere sind die grösseren Blutgefässe, auch die inneren Organe zu vermeiden.

Diese Flüssigkeit bin ich geneigt für Lymphe zu halten. Sie zeigt jedoch den auffälligen Unterschied von der Lymphe erwachsener Individuen, dass sie nicht spontan gerinnt, auch dann nicht, wenn sie mit Blut gemischt ist. Indessen könnte man annehmen, dass die Lymphe in den Organen selbst nach dem Tode geronnen sei, und dass die austretende Flüssigkeit nur das Lymphserum darstellt. Die Vermuthung lässt sich jedenfalls nicht ganz von der Hand weisen, dass die erhaltene Flüssigkeit eine gewisse Quantität Blutserum enthält. Eine bestimmte Entscheidung über die Natur dieser Flüssigkeit zu fällen, will ich unterlassen. So viel aber ist gewiss, dass es eine die embryonalen Gewebe durchsetzende Flüssigkeit ist, deren Kenntniss von nicht unerheblichem Interesse sein dürfte. Diese «Lymphe» habe ich nach dem Vorschlage des Herrn Dr. Kossel in der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin untersucht.

Zu einer Untersuchung wurde die Lymphe mehrerer Individuen von 20—60 cm. Länge vereinigt.

Es wurde das spezifische Gewicht der Lymphe in einem Falle zu 1,021, im zweiten Falle zu 1,024 bestimmt.

Sodann wurden zwei quantitative Analysen ausgeführt, im Wesentlichen nach der von Hoppe-Seyler¹⁾ angegebenen Methode zur Bestimmung der Eiweissstoffe, Extraktivstoffe, Fette und Salze in serösen Flüssigkeiten. Die hierbei erhaltenen Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

¹⁾ Hoppe-Seyler, Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 5. Aufl., S 423.

	In 100 Theilen.	
	I.	II.
Wasser	94,398	94,489
Feste Stoffe	5,602	5,511
Albumin.	2,972	1,961
In Wasser lösliche Extraktivstoffe	1,235	2,654
In Alkohol lösliche Extraktivstoffe		0,062
Cholestearin	0,675	0,011
Fett		0,060
Lecithin		
Lösliche Salze.	0,613	0,720
Unlösliche Salze	0,107	0,040

In jedem Falle wurde ausserdem eine spezielle Bestimmung der Trockensubstanz ausgeführt. Dieselbe ergab:

	In 100 Theilen.	
	I.	II.
Wasser	94,65	94,277
Feste Stoffe	5,35	5,723

Im Anschluss an die quantitativen Analysen wurden folgende qualitative Versuche angestellt:

Beim Verdünnen der Lymphe mit einer grösseren Menge Wasser entstand ein geringer Niederschlag, ebenso bei Zusatz einiger Tropfen Essigsäure.

Ein in derselben Weise, wie bei der quantitativen Untersuchung, dargestelltes wässriges Extrakt zeigte keine Peptonreaktion.

Bei der Bestimmung der Coagulationstemperatur traten bei 54° geringe Flocken auf, bei 64° wurde die Flüssigkeit trübe und undurchsichtig.

Durch Eintragen von Kochsalz in die Lymphe wurde ein flockiger Niederschlag hervorgerufen, welcher in 10% Chlorammoniumlösung löslich war.

Hiernach muss man annehmen, dass geringe Mengen von Globulinsubstanzen in der Flüssigkeit vorhanden waren.

Die Coagulation bei 64° weist auf die Gegenwart von Serumalbumin hin.

Alsdann wurde eine grössere Menge Lymphe erhitzt und mit basischem Bleiacetat gefällt. In der abfiltrirten Flüssigkeit wurde das Blei durch Schwefelwasserstoff entfernt. Alsdann wurde das Filtrat mit Quecksilbernitrat unter gleichzeitiger Neutralisation durch kohlensaures Natron ausgefällt. Der Niederschlag wurde abfiltrirt, ausgewaschen, in Wasser vertheilt und durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Schwefelquecksilber wurde abfiltrirt und das Filtrat nach dem Verjagen des Schwefelwasserstoffs durch Erhitzen unter Neutralisation durch kohlensauren Kalk eingedampft. Der Rückstand wurde mit Alkohol extrahirt, der ungelöst bleibende Theil mit Wasser gekocht. Dies wässrige Extrakt wurde eingedampft. Eine Probe des Rückstandes auf dem Platinbleche erhitzt, gab den Geruch nach verbrennender stickstoffhaltiger Substanz und hinterliess nur eine sehr geringe Menge Asche. Der Rückstand wurde alsdann in Ammoniak gelöst und mit Silbernitrat versetzt. Hierbei entstand ein gallertiger Niederschlag. Derselbe wurde in Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,1 unter Erwärmen gelöst. Beim langsamen Erkalten entstand ein weisser Niederschlag, der unter dem Mikroskop nadelförmige in Büscheln und Sternen angeordnete Krystalle zeigte. Eine genaue Bestimmung derselben konnte ihrer geringen Menge wegen nicht ausgeführt werden. Indess zeigen die Reaktionen, dass der grössere Theil des Rückstandes aus Adenin oder Hypoxanthin bestand. Die Gegenwart von Guanin ist wegen der Löslichkeit in wässrigem Ammoniak unwahrscheinlich, die von Xanthin durch das Verhalten der Silberverbindung gegen Salpetersäure ausgeschlossen.

Das vorhin durch Extraktion mit Alkohol erhaltene Filtrat wurde eingedampft, mit einer frisch bereiteten Lösung von krystallisirtem essigsaurem Quecksilberoxyd¹⁾ gefällt,

1) Harnstoff wird, wie neuerdings im hiesigen Laboratorium ange stellte Versuche gezeigt haben, durch essigsaures Quecksilber quantitativ gefällt.

filtrirt, der Rückstand in Wasser vertheilt, mit Schwefelwasserstoff behandelt, das Schwefelquecksilber abfiltrirt und das Filtrat eingedampft. Beim Eindampfen blieb eine Masse zurück, die keine Harnstoffkrystalle erkennen liess, auch auf Zusatz von Salpetersäure keine auf Harnstoff zu beziehende Abscheidung gab. Die Masse gab ein gut krystallisirendes salzsaures Salz und war anscheinend eine einheitliche. Dieselbe gab die oben erwähnte Reaktion mit ammoniakalischer Silberlösung und war demnach entweder Adenin oder Hypoxanthin.

II. Ueber die chemische Zusammensetzung des embryonalen Gehirns.

Die Angaben, welche wir in der Litteratur über die chemische Zusammensetzung des embryonalen Gehirns finden, sind äusserst spärlich. v. Bibra und Schlossberger sind die Einzigen, die sich genauer damit beschäftigt haben.

v. Bibra ¹⁾ kommt dabei zu dem Resultate, dass im Vergleich zum erwachsenen Individuum beim Foetus der «Fettgehalt» ²⁾ ein ganz geringer ist, dass der Wassergehalt ein grösserer und der Gehalt an festen albuminösen Bestandtheilen ein geringerer ist.

Schlossberger ³⁾ macht bereits darauf aufmerksam, dass ein Unterschied zwischen grauer und weisser Substanz beim Embryo nicht wahrzunehmen ist.

Ich habe mich bei meinen Analysen der Gehirne von Rinderembryonen nicht darauf beschränkt, wie die beiden oben genannten Forscher es gethan haben, Wasser, Aetherextrakt und die übrigen festen Theile zu bestimmen, sondern

¹⁾ v. Bibra, vergl. Untersuchungen über d. Gehirn d. Menschen u. d. Wirbelthiere, Mannheim 1854.

²⁾ Unter «Fett» sind hier alle in Aether löslichen Substanzen, im Wesentlichen Lecithin und Cholestearin zu verstehen.

³⁾ Schlossberger, Erster Versuch einer allgemeinen und vergleichenden Thierchemie. Leipzig 1858.

ich habe mich bemüht, die Menge der Eiweissstoffe, des Cholestearin, Lecithin, Cerebrin, der Salze etc. festzustellen.

Bevor ich die Resultate der quantitativen Analyse anführe, scheint es mir zweckmässig, eine qualitative Untersuchung zu erwähnen, welche entscheidend für die später angewandte Untersuchungsmethode wurde.

Ich beabsichtigte zunächst die Untersuchung des embryonalen Gehirns nach der von Petrowsky¹⁾ für das Gehirn von Erwachsenen angewandten Methode anzustellen. Zu dem Zweck wurde die gut zerriebene Gehirnmasse eines ca. 50 cm. langen Rinderembryo in der Kälte mit Alkohol und Aether erschöpft, dann zur Aufnahme des Cerebrin mit heissem, absolutem Alkohol ausgezogen und heiss filtrirt. Beim Erkalten des Filtrats hätte sich das Cerebrin ausscheiden müssen. Dies geschah aber nicht, sondern die Flüssigkeit blieb vollkommen klar. Dies wurde dreimal mit demselben Resultate versucht. Um noch eventuelle Spuren von Cerebrin zu finden, wurde in einem Falle der Alkohol bis auf ein Viertel verdunstet. Beim Erkalten schied sich eine sehr geringe Quantität eines feinen weissen Pulvers aus, welches abfiltrirt wurde. Dasselbe bräunte sich beim Trocknen und klebte fest an das Filter an. Das Filter wurde nun mit absolutem Alkohol ausgekocht und filtrirt, der beim Eindampfen des Filtrats erhaltene Rückstand wurde in concentrirter Schwefelsäure gelöst, in kochendes Wasser gegossen und mit demselben einige Zeit erwärmt. Durch dies Verfahren wird bekanntlich das Cerebrin unter Abspaltung einer reducirenden Verbindung zersetzt, welche sich in der Flüssigkeit durch Natronlauge und Kupfersulfat nachweisen lässt. Da aber von einer solchen Reduktion nicht die geringste Spur wahrzunehmen war, so ist also im embryonalen Gehirn kein Cerebrin enthalten.

Da ich hierdurch der Mühe überhoben war, bei der quantitativen Untersuchung des Gehirns auf das Cerebrin oder auf das Protogon, die Muttersubstanz des Cerebrin, be-

¹⁾ Archiv für d. ges. Physiologie. Bd. VII, S. 367.

sonders Rücksicht zu nehmen, so habe ich es vorgezogen, die Analysen im Wesentlichen in derselben Weise anzustellen, wie es bei der Lymphe geschehen war.

In der folgenden Tabelle sind die auf diese Weise erhaltenen Resultate zusammengestellt.

	I. Länge des Embryo 62 cm. in 100 Theilen.	II. Länge des Embryo 68 cm. in 100 Theilen.
Wasser	90,806	90,977
Summe der festen Bestandtheile.	9,194	9,023
Eiweisssubstanzen	4,153	4,156
In Alkohol lösl. Extraktivstoffe .	0,148	0,158
In Wasser lösl. Extraktivstoffe .	1,732	1,576
Cholestearin und Fette	1,684	1,924
Lecithin	0,610	0,315
Lösliche Salze	0,757	0,746
Unlösliche Salze	0,110	0,148

Die Bestimmung der Trockensubstanz hatte ergeben:

	I. Länge des Embryo 62 cm. in 100 Theilen.	II. Länge des Embryo 68 cm. in 100 Theilen.
Wasser	90,75	90,99
Feste Substanz	9,25	9,01

Diese Zahlen sind wegen des hohen Wassergehaltes des embryonalen Gehirns, der im Wesentlichen auf Lymphe zu beziehen ist, mit den von Petrowsky für das Gehirn des erwachsenen Rindes gefundenen Werthen nicht direkt vergleichbar. Berechnet man die obigen Zahlen in Procenten der trockenen Substanz, so ergeben sich wichtige Anhaltspunkte für den Vergleich mit der grauen Substanz des ausgewachsenen Gehirns.

In der folgenden Tabelle sind die von mir gefundenen Zahlen denen Petrowsky's gegenübergestellt.

	Rinderembryo.		Erwachsenes Rind.	
	I.	II.	Graue Substanz.	Weisse Substanz.
Feste Substanz	100	100	100	100
Eiweiss	45,1670	46,0560	55,3733	24,7252
Lecithin	6,6331	3,4923	17,2402	9,9045
Cholestearin	18,3154	21,3225	18,6845	51,9088
Cerebrin	—	—	0,5331	9,5472
Extraktivstoffe	20,4536	19,2226	6,7135	3,3421
Salze	9,4302	9,9058	1,4552	0,5719

Die von mir für das embryonale Gehirn gefundenen Zahlen stimmen mit Ausnahme des Lecithins mit den für die graue Substanz gefundenen annähernd überein, speziell für das Cholestearin. Der hohe Cholestearingehalt der weissen Substanz ist ein typischer und von dem des embryonalen Gehirns durchaus verschieden.

Wir werden durch die vorliegenden Zahlen an eine wichtige entwicklungsgeschichtliche Thatsache erinnert. Die Markscheiden bestehen bekanntlich erst in späteren Stadien der Entwicklung, ja nach den Untersuchungen von Flechsig zum grössten Theil erst nach der Geburt des Menschen. Die Markscheiden bilden nicht allein anatomisch, sondern auch chemisch den eigenthümlichen Charakter der weissen Substanz. Das embryonale Gehirn, welches dieser eigenthümlichen Apparate entbehrt, steht auch chemisch der grauen Substanz sehr nahe. Es ist bekanntlich sehr schwierig, aus dem Gehirn des erwachsenen Individuums graue Substanz in einer für die Analyse geeigneten Reinheit zu gewinnen, in viel höherem Grade dürfte das für meine Versuche verwandte embryonale nervöse Centralorgan frei von weisser Substanz sein. Freilich tritt hier eine Verunreinigung ein, die bei dem ausgewachsenen Organ fehlt oder wenigstens lange nicht so erheblich ist. Das ist die mit Lymphe. Die Grösse dieses Fehlers ist aber

zu überblicken, da ich in dem ersten Abschnitt meiner Arbeit Analysen der Lymphe mitgetheilt habe.

Aus den Untersuchungen Witkowski's¹⁾ geht hervor, dass das embryonale Gehirn kein Neurokeratin enthält, und dass das Auftreten des Neurokeratins in dem Maasse erfolgt, wie sich das Nervenmark entwickelt.

In meinen Untersuchungen ergibt sich ein analoger Fall für das Cerebrin oder für die Muttersubstanz des Cerebrins, das Protagon. Der Cerebringehalt der weissen Substanz des erwachsenen Gehirns ist ein beträchtlicher, der der grauen Substanz ein geringer. Wir dürfen uns wohl der Vermuthung Hoppe-Seyler's anschliessen, welcher annimmt, dass der geringe Cerebringehalt, welcher von Petrowsky in der grauen Substanz gefunden wurde, auf die nicht zu vermeidende Beimengung von markhaltigen Fasern zu beziehen ist und dass das Cerebrin demnach ein charakteristischer Bestandtheil des Nervenmarks ist. Meine Untersuchungen haben gezeigt, dass auch dieser Stoff dem embryonalen nervösen Centralorgan fehlt, dass somit auch in diesem Punkte eine vollkommene Analogie zwischen dem embryonalen Gehirn und der grauen Substanz besteht.

Abweichend ist indess das Verhalten der Extraktivstoffe, des Lecithins und der Salze. Was die Extraktivstoffe anbelangt, so ist zu bemerken, dass Petrowsky kein Wasserextrakt dargestellt hat; die von mir bestimmten in Wasser löslichen Extraktivstoffe sind bei ihm von den Eiweissstoffen nicht getrennt worden. Zieht man dies in Erwägung, so ist die Differenz zwischen der Menge der Extraktivstoffe im embryonalen Gehirn und in der grauen Substanz nicht so auffallend, die Menge der Eiweisssubstanzen stimmt aber noch besser überein.

Der Gehalt des embryonalen Gehirns an Lecithin ist ein geringer, während die graue Substanz sehr reich an Lecithin ist, viel reicher als die weisse. Es muss weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, ob wir es hier mit einer

1) Archiv für Psychiatrie, Bd. XIV, Heft 1.

eigenthümlichen Ausbildung der zellig-nervösen Elemente zu thun haben, durch welche diese reich an Lecithin werden und welche erst mit der späteren Entwicklung des Gehirns eintritt.

Für die Salze muss jedenfalls der hohe Gehalt des embryonalen Gehirns an der aschereichen Lymphe in Betracht gezogen werden.

Zum Schluss erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Dr. Kossel für die mannigfache Hilfe, die er mir bei dieser Arbeit hat zu Theil werden lassen, auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.
