

Untersuchung der Proteinsubstanzen in den lichtbrechenden Medien des Auges.

II.

Von

Carl Th. Mörner in Upsala.

(Der Redaction zugegangen am 1. Juli 1893.)

Die Hornhaut.

Obgleich die Hornhaut, im Ganzen genommen, eine einzige von den übrigen lichtbrechenden Medien getrennte Schicht bildet, lässt sie sich ihrerseits ohne Schwierigkeit in mehrere, anatomisch scharf getrennte Theile zerlegen, nämlich in das Epithellager, die Grundsubstanz (*substantia propria corneae*) und eine dünne, glasklare Haut, die Descemet'sche Haut (*membrana Descemetii seu Demoursii*), ein Umstand, welcher nicht ausser Acht gelassen werden darf. Es ist im Gegentheil zur Gewinnung einer klaren Einsicht in die Chemie der Hornhaut nothwendig nach Isolirung der verschiedenen Bestandtheile jedem einzelnen eine besondere chemische Untersuchung zu widmen.

1. Die Grundsubstanz der Hornhaut.

Da die Grundsubstanz den unverhältnissmässig grössten Theil der Hornhaut bildet, hat sie sich, auf Kosten der übrigen Schichten, in überwiegendem Masse die Aufmerksamkeit der Chemisten zugezogen und zwar in solcher Ausdehnung, dass einerseits die Ausdrücke «Hornhaut» und «Grundsubstanz der Hornhaut» als synonyme Begriffe genommen werden und andererseits Angaben über die Chemie der übrigen Schichten kaum in der Litteratur gefunden werden können.

Die erste chemische Untersuchung der Grundsubstanz der Hornhaut wurde von Joh. Müller¹⁾ (1836), gleichzeitig mit seiner bekannten Untersuchung — der ersten dieser Art — über den hyalinen Knorpel, ausgeführt. Nach Müller's Ansicht besteht die Grundsubstanz in dem Knorpel sowohl wie in der Hornhaut aus einer einzigen, ihrer physikalischen Beschaffenheit nach dem Collagen ziemlich gleichen, aber in chemischer Beziehung verschiedenen Proteïnsubstanz, dem Chondrigen, dessen durch Kochen mit Wasser erhaltene lösliche Modification, das Chondrin, sich durch ihr Verhalten gegen gewisse Fällungsreagenzen von dem Glutin, das durch dieselbe Behandlung aus dem Collagen gewonnen wird, unterscheidet.

Die von Müller hiermit ausgesprochene Ansicht über den einfachen chemischen Bau der Hornhaut- und Knorpel-Grundsubstanzen und über die Identität dieser beiden Substanzen gewann allgemeine Verbreitung und blieb in der Hauptsache unverändert bis gegen Ende der 1870er Jahre.

Man kann es nicht in Abrede stellen, dass die Frage über die chemische Beschaffenheit der Hornhaut-Grundsubstanz in den 40 Jahren, die auf Müller's erste Entdeckung folgten, wenig Fortschritte gemacht hat, und zwar trotzdem neue Untersuchungen nicht ausgeblieben sind. Indem man von Müller's Chondrigen-Chondrintheorie als von einem in der Hauptsache keine nähere Prüfung fordernden Factum ausging, vertiefte man sich in Versuche, in verschiedenen Geweben « Chondrin » nachzuweisen und mit Hülfe von Reactionen von untergeordnetem Werthe den Unterschied zwischen « Chondrin »-Präparaten verschiedener Herstammung zu entdecken, wobei besonders die Möglichkeit in's Auge gefasst wurde, auf diesem Wege die Verschiedenheit zwischen dem Chondrin der Hornhaut und des Knorpels festzustellen; Untersuchungen, deren wesentlicher Werth nothwendig mit der Richtigkeit des Grundes, auf den sie sich alle stützten, der Müller'schen

¹⁾ Ueber die Structur und die chemischen Eigenschaften der thierischen Bestandtheile der Knorpel und Knochen. *Annalen der Physik und Chemie*, Bd. 38, S. 295, 1836.

Chondrintheorie, stehen und fallen. Zu dieser Kategorie müssen die später erschienenen Arbeiten von His¹⁾ (1856), Bruns²⁾ (1867) und Fubini³⁾ (1876), welche die Chemie der Hornhaut behandeln, geführt werden.

Nach v. Morochowetz⁴⁾ für die Aufklärung dieser Frage so bedeutungsvoller Untersuchung, welche die Unrichtigkeit der Müller'schen Auffassung bewies, kann den genannten Arbeiten keine grössere Bedeutung zuerkannt werden, warum auch ein näheres Eingehen auf dieselben an dieser Stelle überflüssig wird. Um so wichtiger dagegen ist es, hier an die Hauptzüge der 1877 von Morochowetz veröffentlichten Arbeit zu erinnern.

v. Morochowetz gründete nicht, wie alle seine Vorgänger, seine Versuche über die chemische Natur der Grundsubstanz in der Hornhaut und dem Knorpel ausschliesslich auf das Studium derjenigen Lösungen, die durch anhaltendes Kochen der Gewebe mit Wasser erhalten werden, sondern wandte das natürlichere und weniger eingreifende Verfahren an, die frischen Organe mit einem geeigneten Lösungsmittel, wie Kalk- oder Barytwasser, bei gewöhnlicher Temperatur zu extrahiren. Dadurch gelang es ihm, alle früher als chondrigenhaltig betrachteten Gewebe ohne Ausnahme in zwei verschiedene Bestandtheile zu zerlegen, von denen der eine nach der Extraction einen unlöslichen Rest bildete, der andere in den Lösungsmittel überging.

Was man also nach Müller's Vorbild unter dem Namen « Chondrigen » seit lange für ein chemisches Individuum hielt, war also eine mechanische Mischung zweier ganz verschiedener

¹⁾ Beiträge zur normalen und pathologischen Histologie der Cornea. Basel, 1856.

²⁾ Chemische Untersuchungen über die Hornhaut des Auges. Medicin.-chemische Untersuchungen (Hoppe-Seyler's), 1867, S. 260.

³⁾ Ueber das Vorkommen des Chondrigens in der Cornea verschiedener Thierarten. Untersuchungen zur Naturlehre des Menschen und der Thiere (Moleschott's), Bd. 11. S. 350, 1876.

⁴⁾ Zur Histochemie des Bindegewebes. Verhandl. des naturhist.-medic. Vereins zu Heidelberg, Bd. 1, 1877.

Substanzen: des Collagen und des Mucin, und ebenso lassen sich die so viel studirten und beachteten «Chondrinreactionen» leicht als durch eine Mischung von Glutin mit Mucin hervorgerufen erklären. Sowohl in der Hornhaut wie im Knorpel sollten also nach v. Morochowetz' Auffassung die Grundsubstanzen aus Collagen und Mucin gebildet sein.

Wenn auch im Detail einige Modificirung nöthig war, so hat doch diese Entdeckung v. Morochowetz' über die zusammengesetzte Natur der Grundsubstanzen, was den Knorpel betrifft, eine überzeugende Bekräftigung durch die Untersuchungen von Landwehr¹⁾, Krukenberg²⁾, dem Verf.³⁾ und Schmiedeberg⁴⁾ erhalten.

Was die Richtigkeit dieser Entdeckung in Bezug auf die Hornhaut betrifft, so hat dagegen die Litteratur keine einzige seitdem herausgekommene Arbeit aufzuweisen, was mich veranlasste, die Hornhaut-Grundsubstanz zum Gegenstande erneuerter Untersuchung zu machen.

Nachdem die Richtigkeit der Angaben v. Morochowetz' durch wiederholte und unter verschiedenen Verhältnissen vorgenommene Versuche in der Hauptsache constatirt war, indem die Grundsubstanz sich leicht genug in Collagen und eine mucinartige Substanz theilen liess, galt es, die einzelnen Bestandtheile und ganz besonders die letztgenannte näher zu studiren.

Das Corneamuköid.

Ueber den mucinartigen Bestandtheil in der Hornhaut-Grundsubstanz, welchen ich aus unten mitzutheilenden Gründen Corneamuköid nenne, werden keine detaillirten Eigenschaften oder Reactionen in v. Morochowetz' Arbeit mitgetheilt.

¹⁾ Die chemischen Bestandtheile des Knorpels. *Zeitschrift für Biologie*, Bd. 20, S. 307, 1884.

²⁾ Ueber die Bedeutung des thierischen Gummi. *Archiv für die gesammte Physiologie (Pflüger's)*, Bd. 39, S. 193, 1886.

³⁾ Chemische Studien über den Trachealknorpel. *Skandinavisches Archiv f. Physiologie*, Bd. 1, S. 210, 1889.

⁴⁾ *Archiv f. experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, Bd. 28, S. 354, 1891.

Dass die Substanz aus alkalischer Lösung von Essigsäure gefällt werden kann, dass sie in Bezug auf ihre Fällungsreactionen dem «Chondrin» ähnlich ist, dass sie nach vorgenommenen Analysen, deren Zifferwerthe jedoch nicht angeführt werden, schwefelfrei ist und mit Mucin¹⁾ nahe übereinstimmt, und dass sie in Uebereinstimmung mit Mucin beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure eine Flüssigkeit bildet, welche auf alkalische Kupferlösung reducirend wirkt, das ist ungefähr Alles, was wir aus v. Morochowetz' Untersuchung erfahren können.

Um ein reines Untersuchungsmaterial zu gewinnen, schnitt ich den mit der Hornhaut zusammenhängenden Theil der Sehnenhaut ab, worauf das Epithellager und die Des-cemet'sche Haut mit einem Hornmesser abgeschabt und verwahrt wurde, damit jedes für sich besonders untersucht werden konnte. Die also von den daran hängenden Schichten befreiten, aus Grundsubstanz bestehenden Scheiben wurden, nachdem sie in einer Fleischhackmaschine zerkleinert worden, in Partien von 100—300 Stück aufgeschlammt und zwar in dest. Wasser oder in alkalischen Lösungen von bei verschiedenen Versuchen verschiedener Stärke, 0,02 proc. Kalilauge, 0,02—0,2 proc. Ammoniak, wobei ungefähr 10 ccm. Flüssigkeit auf jede Hornhaut berechnet wurde. Nach 2—3-tägiger Extraction bei Zimmertemperatur — nur ein einziger Versuch wurde bei 40° C. vorgenommen — wurde der auf ein mehrfach vergrössertes Volumen angeschwollene Rest durch Filtriren entfernt, was immer mit Leichtigkeit vor sich ging und ein klares, dünnflüssiges Filtrat ohne fadenziehende Beschaffenheit ergab. Bei Zusatz von Essigsäure oder verdünnter Salzsäure wurde Corneamukoid in reicher Menge als weisse, im ersten Augenblick feinflockige Fällung ausgeschieden, die sich bald zu grösseren Flocken vereinigte und nach Verlauf eines Tages am Boden des Gefässes als zusammenhängende, compacte Masse zu finden war.

¹⁾ Ein Ausdruck, der, wie wir jetzt wissen, recht vieldeutig ist, da verschiedene Mucinarten sich bedeutend in der elementaren Zusammensetzung von einander unterscheiden.

Die Fällung wurde in sehr verdünntem Alkali gelöst und wieder mit Essigsäure ausgefällt, um zuletzt, nachdem sie auf dem Filter gewaschen war, theils durch Behandlung mit Alkohol und Aether zur quantitativen Analyse vorbereitet zu werden, theils für qualitative Prüfung in dest. Wasser unter möglichst wenigem Alkalizusatz gelöst zu werden. Hierbei erhielt ich eine klare, neutral reagirende Lösung, die niemals schleimig oder fadenziehend, höchstens bei mässiger Concentration mehr oder weniger dickflüssig war und die bei qualitativer Prüfung folgende Eigenschaften aufwies.

Beim Aufkochen nach oder ohne Kochsalzzusatz wurde niemals eine Trübung bemerkt; die Flüssigkeit verblieb klar oder nahm zuweilen eine geringe Opalescenz an.

Durch sowohl organische wie unorganische Säuren, fast ohne Ausnahme, wurde das Mukoïd in feinen, undurchsichtigen Flocken ausgeschieden, welche in einem Ueberschuss von unorganischen Säuren gelöst werden konnten, ohne bei einem weiteren Ueberschuss wieder auszufallen, in einem Ueberschuss von organischen Säuren dagegen sehr schwer löslich waren. Besonders möchte ich hervorheben, dass die Lösung durch Gerbsäure gefällt wird. Ein Zusatz von Neutralsalzen, wie z. B. Kochsalz, Natriumacetat, Ferrocyankalium, verhindert die Fällung vollständig und vermag die Fällungen, die mit Säuren hervorgebracht sind, wieder zu lösen. Die mit einer Säure ausgefällte und durch Waschen von der Säure befreite Substanz reagirt deutlich sauer, ist in Wasser unlöslich, aber wird mit Leichtigkeit selbst in äusserst verdünnter alkalischer Flüssigkeit, z. B. in 0,005 proc. Kalilauge, gelöst.

Mit mehreren Metallsalzen gibt die Lösung der Substanz eine voluminöse, grobflockige Fällung, z. B. mit Zinnchlorür, Platinachlorid, Mercuronitrat, Kupfersulphat, basischem Bleiacetat, Eisenchlorid, Alaun; von anderen wird sie nicht gefällt, wie von Silbernitrat, Quecksilberchlorid und neutralem Bleiacetat.

Beim Erwärmen mit Millon's Reagens, Adâmciewicz's Reagens, Salpetersäure, concentr. Salzsäure wurden dieselben Farbereactionen erhalten, die den Eiweisskörpern zukommen,

wenn auch von bedeutend geringerer Intensität. Mit Kalilauge und Bleiacetat versetzt, nimmt die Flüssigkeit beim Erwärmen eine dunkelbraune oder undurchsichtig schwarze Farbe an; die Substanz enthält also lose gebundenen, «bleischwärenden» Schwefel in reichlicher Menge.

Nach einem Zusatz von Salzsäure zu 5% und Erwärmen der Flüssigkeit im Wasserbad gibt die Trommer'sche Probe eine reducirende Substanz an. Abgespaltene Schwefelsäure kann dagegen nicht mit Chlorbaryum in der salzsauren Flüssigkeit nachgewiesen werden (vgl. Chondromukoid).

Bei Digestion der mit Salzsäure zu 0,4% sauer gemachten und mit Pepsin versetzten Flüssigkeit entsteht keine nucleinartige Fällung.

Die elementare Zusammensetzung wurde durch Analyse von einer Anzahl Präparate gewonnen, welche durch Ausfällen der Substanz mit Essigsäure oder Salzsäure hergestellt waren ¹⁾.

Präp. No. I. Extraction der Hornhaut mit 0,05 proc. Ammoniak während 3 Tagen; die Substanz mit Essigsäure 2 mal gefällt.

0,168 gr. = 12,75% Stickstoff,
0,886 gr. = 2,02% Schwefel,
0,2795 gr. = 49,96% Kohlenstoff,
0,2795 gr. = 6,94% Wasserstoff.

Präp. No. II. 0,075 proc. Ammoniak, 2 Tage; 3 mal Salzsäure.
0,200 gr. = 12,63% Stickstoff.

Präp. No. III. 0,1 proc. Ammoniak, 1 Tag; 2 mal Essigsäure.
0,146 gr. = 12,74% Stickstoff.
0,2805 gr. = 50,36% Kohlenstoff,
0,2805 gr. = 7,01% Wasserstoff.

Präp. No. IV. 0,2 proc. Ammoniak, 3 Tage; 3 mal Salzsäure.
0,239 gr. = 12,83% Stickstoff.

Präp. No. V. 0,02 proc. Kalilauge, 3 Tage; 2 mal Salzsäure.
0,173 gr. } = 12,66% Stickstoff,
0,173 gr. }
1,283 gr. = 2,12% Schwefel.

Präp. No. VI. Dest. Wasser, einen Tag; 2 mal Essigsäure.
0,1455 gr. = 12,95% Stickstoff,
0,813 gr. = 2,08% Schwefel.

¹⁾ Der Aschegehalt belief sich auf 0,2—0,4%.

Präp. No. VII. Dest. Wasser, einen Tag bei 40° C; 3mal Essigsäure.
0,183 gr. = 12,97 % Stickstoff.

Woraus als Mittelwerth für die Zusammensetzung der Substanz erhalten wurde:

12,79 % Stickstoff,
2,07 % Schwefel,
50,16 % Kohlenstoff,
6,97 % Wasserstoff,
28,01 % Sauerstoff.

Ogleich das Verfahren bei der Herstellung absichtlich variiert wurde, zeigen die aus verschiedenen Präparaten erhaltenen analytischen Werthe unter einander Uebereinstimmung genug, um die Individualität der Substanz ausser Zweifel zu stellen.

Aus den allgemeinen Eigenschaften und qualitativen Reactionen, welche, wie oben angeführt, der in Frage stehenden Substanz einerseits, ihrer elementaren Zusammensetzung (relative niedriger Kohlenstoff- und Stickstoff-Gehalt) andererseits zukommen, geht mit aller wünschenswerthen Klarheit ihre Zusammengehörigkeit mit früher bekannten Mucinsubstanzen hervor, wenn sie auch nicht, mit Berücksichtigung ihrer physikalischen Eigenschaften, zur Gruppe der echten Mucinstoffe geführt werden kann, sondern den sogenannten Mukoïdsubstanzen zugehört. Aus diesem Grunde scheint es mir, dass diese Substanz passend Corneamukoïd genannt werden kann.

Nachdem ihre Eigenschaft als Mukoïd also an den Tag gelegt ist, wäre es zunächst von Interesse, festzustellen, ob sie eine für die Hornhaut charakteristische Substanz oder möglicher Weise mit einem früher bekannten Mukoïd anderer Herstammung identisch ist. Bisher näher untersuchte Mukoïde sind: Pseudomucin aus Ovarialflüssigkeiten (Hammarsten¹), Chondromukoïd im Knorpel (Verf.²), eine in gewissen Ascites-

¹) Ueber Metalbumin und Paralbumin, ein Beitrag zur Chemie der Kystomflüssigkeiten. Jahresbericht über die Fortschritte der Thier-Chemie, Bd. 2, S. 11, 1882.

²) Loc. cit.

flüssigkeiten von Hammarsten¹⁾ nachgewiesene Mukoïdsubstanz, und der vom Verfasser analysirte Glaskörpermukoïd.

Von Pseudomucin unterscheidet sich Corneamukoïd unter anderem durch Fällbarkeit von Essigsäure, höheren Stickstoffgehalt (12,79% gegen 10,28%) und höheren Schwefelgehalt (2,07% gegen 1,25%).

Obgleich mit Chondromukoïd in Bezug auf den Stickstoffgehalt (12,79% resp. 12,58%) und einem ungewöhnlich reichen Schwefelgehalt (2,07% resp. 2,42%) nahe übereinstimmend, unterscheidet sich der Corneamukoïd durch die Art, wie der Schwefel gebunden ist, indem kein Theil des Schwefels des Corneamukoïds durch Kochen mit einer Mineralsäure abgespalten werden kann, d. h. sich in Aetherschwefelsäurebindung befindet, welches dagegen mit fast $\frac{3}{4}$ des Schwefels in der Chondromukoïdsubstanz der Fall ist; ausserdem herrscht ein bedeutender Unterschied im Kohlenstoff-Gehalt (Differenz beinahe 3%), und ein etwas abweichendes Verhalten zu Reagenzen.

In Bezug auf Ascitesmukoïd ist der Stickstoffgehalt beinahe derselbe, der Kohlengehalt erwies sich um 1,2% höher als in Corneamukoïd, doch ist es augenblicklich unmöglich, eine bestimmte Ansicht über die Identität resp. Nicht-Identität dieser Substanzen zu äussern, da bis jetzt keine Schwefelbestimmung der Ascitesmukoïdsubstanz ausgeführt worden ist.

Auch von dem unten beschriebenen Glaskörpermukoïd weicht der Corneamukoïd mit bedeutender Ungleichheit im Schwefelgehalt ab.

Also zeichnet sich der Corneamukoïd von allen in dieser Beziehung bisher bekannten Mucinsubstanzen¹⁾ dadurch aus, dass es sämtliche an Schwefelreichthum²⁾ übertrifft, und sollte daher für einen der Hornhaut-Grundsubstanz charakteristischen Bestandtheil gehalten werden.

¹⁾ Mit Ausnahme von Chondromukoïd.

²⁾ Wie v. Morochowetz zu seiner Angabe, dass die mucinartige Substanz der Cornea schwefelfrei sei, gelangt ist, ist mir unmöglich zu verstehen.

Was nach diesem Vergleiche besonders hervorgehoben zu werden verdient, ist, dass die Mukoïdstoffe der Hornhaut-Grundsubstanz und die des Knorpels nicht identificirt werden können, sondern wesentlich verschieden sind: dieser Umstand an und für sich, abgesehen davon, dass die Knorpel-Grundsubstanz nach neueren Untersuchungen eine ihr besonders eigene Substanz, die Chondroïtsäure, enthält, erlaubt uns nicht, die Grundsubstanzen der Hornhaut und des Knorpels als zwei vom chemischen Gesichtspunkte ausgleichartige Bildungen anzusehen, wozu nicht nur Joh. Müller auf seinem primitiven Standpunkte, sondern auch v. Morochowetz, nach der Entdeckung des Collagen und des «Mucin» in beiden, sich berechtigt glaubten.

Weitere Verschiedenheiten zwischen den Mukoïds-substanzen der Hornhaut und des Knorpels traten beim Untersuchen ihrer Zersetzungsproducte hervor. Während das Chondromukoïd beim Einwirken von Säuren oder Alkalien unter anderen Zersetzungsproducten Albuminat in nicht unbedeutender Menge gibt, wie es auch der Fall ist mit Submaxillarismucin (Hammarsten¹⁾), gibt das Corneamukoïd bei der Zersetzung kein Albuminat, wie aus mehreren Versuchen hervorging.

Reines Corneamukoïd wurde behandelt mit: 1) gesättigter Baryhydratlösung während 12 Stunden bei Zimmertemperatur; 2) 5proc. Kalilauge, 2 Tage, bei Zimmertemperatur; 3) 5proc. Kalilauge, 14 Tage, bei Zimmertemperatur; 4) kochende 1proc. Kalilauge während einer Stunde, und 5) kochende 2proc. Salzsäure während einer Stunde. Beim Neutralisiren der also erhaltenen Lösungen entstand niemals ein Niederschlag und im Ganzen genommen konnte weder in den neutralisirten Lösungen direkt, noch nachdem sie durch Dialyse von den Salzen befreit waren, eine Substanz gefunden werden, welche durch Säuren (oder Salzsäure und Ferrocyanalium) fällbar war, wogegen Gerbsäure, Quecksilberjodkalium und Salzsäure eine reichliche Fällung ergaben.

Eine nähere Prüfung der also erhaltenen, durch Säuren nicht fällbaren Umwandlungs- oder Zersetzungsproducte des

¹⁾ Ueber das Mucin der Submaxillardrüse. Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. 12, S. 163, 1887.

Corneamukoïds ist nicht von mir vorgenommen worden. Nur ein unbedeutender Versuch in dieser Richtung mag angeführt werden. Die neutralisirte Flüssigkeit des oben angeführten Versuchs 3, welche sich bei direct angestellter Trommer'scher Probe als von reducirenden Substanzen frei erwies, aber nachdem sie kurze Zeit mit Salzsäure erwärmt war, eine starke Reaction gab, wurde mit Gerbsäure im Ueberschuss gefällt. Nachdem der Ueberschuss an Gerbsäure mit Bleiacetat, der Rest davon mit Schwefelwasserstoff entfernt worden war, wurde das schliessliche Filtrat, nachdem es concentrirt worden war, mit verdünnter Salzsäure gekocht und mit der Trommer'schen Probe geprüft. Nicht eine Spur von Reduction zeigte sich dabei. Es ist aber klar, dass das durch Einwirkung von Alkali auf die Corneamukoïds substanz erhaltene Umwandlungs- resp. Spaltungsproduct, welches die erste Quelle der reducirenden Substanz bildet, eine durch Gerbsäure vollständig fällbare Substanz ist, worin auch eine Abweichung von Chondromukoïd liegt, bei dessen Zersetzung der reducirende Atomcomplex in der durch Gerbsäure unter keinen Umständen fällbaren Chondroïtsäure enthalten ist.

Ogleich das Corneamukoïd erst durch v. Morochowetz als eine mucinartige Substanz erkannt wurde, ist es doch zweifellos, dass es bei einer früheren Untersuchung (1867) bemerkt worden ist.

Bruns¹⁾, welcher die Müller'sche Chondrintheorie in unveränderter Gestalt annahm, gibt nämlich beiläufig an, dass er aus dem Wasserextract der Hornhaut beim Zusatz von Essigsäure eine im Ueberschuss schwer lösliche Fällung erhalten hat, die er ohne nähere Beweisführung für einen Eiweisskörper, Alkalialbuminat, erklärt.

Da die Natur der Corneamukoïd-Substanz auf diese Weise, in Folge ungenügender Untersuchung, nicht erkannt wurde, zog sie sich dieses Mal kein grösseres Interesse zu, und ihre Bedeutung für ein richtiges Erkennen der Grundsubstanz der Hornhaut im Ganzen wurde von Bruns übersehen.

¹⁾ Loc. cit.

Das Collagen.

In ungewöhnlich reinem Zustande erhält man diese Substanz durch fortgesetztes Auslaugen der Hornhaut-Grundsubstanz mit schwach alkalischen Flüssigkeiten, wobei die von der Bereitung des Corneamukoid übriggebliebenen Reste zur Anwendung gelangen. Nachdem die Reste nach Extraction bei Zimmertemperatur unter öfterem Wechseln der Flüssigkeit keine durch Essigsäure fällbare Substanz mehr abgaben, wurden sie durch Digestion mit dest. Wasser erst bei Zimmertemperatur, später bei 30—40° C. vollständig von Alkali befreit. Die rein weisse, aufgeschwollene und geleeartig zitternde Masse¹⁾ wurde durch stundenlanges Erwärmen mit dest. Wasser bei 105—110° C. in eine klare, dünnflüssige, bei Abkühlung gelatinirende Lösung verwandelt, die nach Abfiltriren eines äusserst unbedeutenden ungelösten Restes (der Hornhautzellen) theils direct auf ihr Verhalten zu qualitativen Reagenzen geprüft, theils zu Lamellen eingetrocknet und in Bezug auf ihre elementare Zusammensetzung untersucht wurde..

Da es sich hier um eine in den meisten Körpern vorkommende Substanz handelt, deren qualitative Reactionen in jedem Lehrbuch der physiol. Chemie angegeben sind, verzichte ich darauf, sie an dieser Stelle zu wiederholen. Es genügt, daran zu erinnern, dass das aus der Hornhaut gewonnene Glutin in allen qualitativen Reactionen, sowohl den negativen wie den positiven, mit dem übereinstimmt, was man bereits von Glutin anderen Ursprungs kennt. Dagegen schien es mir nicht ohne Interesse zu sein, einige der analytischen Bestimmungen des Hornhaut-Collagens resp. -Glutins anzuführen:

Präp. No. I. Collagen. Die zur Extraction angewandte Flüssigkeit:
0,05 proc. Kalilauge.

0,285 gr.	}	= 16,80 % Stickstoff,
0,180 »		
1,810 »	=	0,31 % Schwefel,
(0,791 »	=	0,32 % Asche.)

¹⁾ In einigen Fällen wurde ein Theil davon abgenommen, um nach Alkohol- und Aetherbehandlung analysirt zu werden.

Präp. No. II. Collagen. 0,1 % Ammoniak.

0,172 gr. = 17,03 % Stickstoff,
 0,638 » = 0,29 % Schwefel,
 (0,610 » = 0,54 % Asche.)

Präp. No. III. Glutin, aus Collagen des vorigen Präparats (0,1 % Ammoniak) hergestellt.

0,1325 gr. = 17,02 % Stickstoff,
 1,404 » = 0,31 % Schwefel,
 (0,488 » = 0,62 % Asche.)

Präp. No. IV. Glutin. 0,05 proc. Kalilauge.

0,148 gr. } = 17,07 % Stickstoff,
 0,119 » }
 (0,4165 » = 0,37 % Asche.)

Präp. No. V. Glutin. 0,2 proc. Ammoniak.

0,1805 gr. = 16,81 % Stickstoff,
 (— » = 1,95 % Asche.)

Präp. No. VI. Glutin. 1 proc. Ammoniak.

0,169 gr. = 16,97 % Stickstoff,
 (— » = 0,98 % Asche.)

Mittelwerth: 16,95 % Stickstoff,
 0,30 % Schwefel.

In recht bedeutendem Grade ist der hier für Collagen resp. Glutin gefundene Schwefelgehalt geringer als der, den man allgemein in Lehrbüchern angegeben findet. So schreibt z. B. Gorup-Besanez¹⁾: « Der Schwefelgehalt des Glutins wurde zu 0,56 % gefunden » und Hammarsten in der deutschen Auflage seines Lehrbuchs: « Der Leim enthält etwa 0,6 % Schwefel ».

In Bezug auf den Stickstoffgehalt nimmt das Hornhaut-Glutin (mit ca. 17 %) die Mitte zwischen dem Glutin der Sehnen, Hausenblase und Knochen (mit ca. 18 %) und dem Knorpel-Glutin (mit ca. 16 %) ein.

Es fehlt nicht an älteren Angaben, dass man aus der Grundsubstanz der Hornhaut verschiedenartige Eiweisskörper

¹⁾ Lehrbuch der physiologischen Chemie (1878), S. 647.

ausziehen kann. So liest man in Kühne's¹⁾ Lehrbuch (1868): «Wässerige Extracte der Cornea enthalten sehr viel Paraglobulin, das wahrscheinlich aus den Zellen stammt»; und in Gorup-Besanez'²⁾ (1878): «Nach A. Schmidt enthält das Wasserextract der Hornhaut fibrinoplastische Substanz und ruft in Fibrinogen enthaltenden Transsudaten Gerinnung hervor». Bruns, dessen Angaben über das Vorkommen von Alkali-Albuminat im Wasserextract der Hornhaut oben bereits behandelt worden sind, gibt ausserdem Myosin als einen Bestandtheil der Hornhaut-Grundsubstanz an und verlegt dasselbe mit Bestimmtheit in die Zellen («Hornhautkörperchen oder Zellen»).

Wenn man die Vorsicht beobachtet, die Hornhaut-Grundsubstanz und das Epithellager jedes einzeln zu untersuchen, so braucht man nur wenige Versuche anzustellen, um über die Unrichtigkeit der Angaben, dass die Eiweisskörper in der Grundsubstanz der Hornhaut incl. der Zellen vorkommen, in's Klare zu gelangen; zugleich tritt der Grund dieses Irrthums deutlich zu Tage: bei früheren Untersuchungen ist die Nothwendigkeit, die Grundsubstanz vom Epithellager zu befreien, übersehen worden. Durch wiederholte Versuche konnte ich mich davon überzeugen, dass sich in dem Extract der reinpräparirten Grundsubstanz, einerlei ob derselbe mit dest. Wasser, Kochsalzlösung oder schwachen Alkalien hergestellt ist, kein einziger Eiweisskörper nachweisen lässt oder höchstens nur spurweise, wogegen das Epithellager eine reichliche Menge davon enthält, was natürlich in den Extract der ganzen Hornhaut übergeht, wenn nicht das Epithellager vor der Extraction vollständig entfernt wird³⁾.

Unter solchen Umständen ist es nicht zu verwundern, dass man der Grundsubstanz, dem am meisten in die Augen fallenden Theil, Bestandtheile zugeschrieben hat, die in Wirklichkeit dem in Folge seiner geringen Ausdehnung nicht beachteten Epithellager zugehören.

¹⁾ Lehrbuch der physiologischen Chemie (1868), S. 386.

²⁾ Loc. cit.

³⁾ Diese Bedingung ist weder von Kühne, Schmidt noch Bruns angedeutet worden.

Wir können also vorläufig die Frage über die Eiweisskörper in der Hornhaut bei Seite lassen, um beim Behandeln der Beständtheile des Epithellagers darauf zurückzukommen. Auch nach Chondroïtsäure suchte ich mit negativem Resultat.

Kürzlich, beim Betrachten der Hornhaut-Grundsubstanz im Ganzen, haben wir auf zwei Proteïnsubstanzen unsere Aufmerksamkeit zu richten: auf Collagen und Corneamukoid, von denen das erstere das histologisch nachweisbare, dichte Netzwerk äusserst feiner Fibrillen bildet, das letztere in einer concentrirten Lösung das fibrilläre Netzwerk durchtränkt. Dass das Corneamukoid, wenigstens zum wesentlichen Theil, wirklich als eine in Wasser leicht lösliche Alkaliverbindung auftritt, geht daraus hervor, dass es ebenso leicht in der Extractionsflüssigkeit zu finden ist, wenn die Hornhaut mit einfachem dest. Wasser extrahirt, wie wenn sie mit einem schwachen Alkali behandelt wird.

Bei längerem Kochen mit Wasser löst sich die ganze Grundsubstanz, welche Lösung, wie Müller zuerst beobachtet hat, sich durch Reagenzen fällen lässt, die auf eine gewöhnliche Leim-(Glutin-)Lösung nicht einwirken. Hier auf diese Reactionen einzugehen, wäre zwecklos, da sie in jedem älteren Lehrbuch zu finden sind, und schon nach v. Morochowetz' Untersuchung und besonders nach der hier vorliegenden mit Bestimmtheit für ein Mischungsphänomen erklärt werden können und somit das Interesse jetzt nicht mehr zu fesseln vermögen.

Um eine Vorstellung von dem Mengeverhältniss zwischen Collagen und Corneamukoid zu erhalten, wurde der Stickstoff- und Schwefelgehalt der Grundsubstanz¹⁾ bestimmt. Da die beiden Substanzen nämlich eine so grosse Verschiedenheit in ihrem Stickstoff- und Schwefelgehalt besitzen, erwies sich dieses Mittel als ebenso einfach wie zuverlässig:

Präp. No. I. 0,200 gr. = 16,04 % Stickstoff,
(— „ = 2,08 % Asche.)

¹⁾ Die reinpräparirte Substantia propria wurde getrocknet, pulverisirt, und dann mit Alkohol und Aether extrahirt.

Präp. No. II. 0,171 gr. | = 16,34 % Stickstoff,
 0,1565 » |
 0,8745 » = 0,63 % Schwefel,
 (0,419 » = 1,67 % Asche).

Präp. No. III. 0,187 gr. | = 16,25 % Stickstoff,
 0,1735 » |
 1,067 » = 0,63 % Schwefel.
 (0,615 » = 1,79 % Asche).

Mittelwerth: 16,21 % Stickstoff,
 0,63 % Schwefel.

Nimmt man den Stickstoffgehalt zum Ausgangspunkt der Berechnung, so findet man, dass die Grundsubstanz zu 82,2 % aus Collagen, zu 17,8 % aus Corneamukoid gebildet wird; geht man dagegen vom Schwefelgehalt aus, so erhält man folgende Werthe: 81,2 % resp. 18,8 %. Die auf verschiedene Weise erlangten Werthe können so einander kontrolliren, da sie gut mit einander übereinstimmen. Das Collagen ist also an Menge weit überwiegend und bildet rund $\frac{4}{5}$ der ganzen Grundsubstanz.

Anhang. Wenn ich auch damit aus dem Rahmen der lichtbrechenden Medien hinaustrete, will ich doch, in Folge des engen anatomischen Zusammenhanges, in welchem die Hornhaut-Grundsubstanz und die Sehnenhaut (sclera) stehen, in grösster Kürze einige Versuche über das letztere Gewebe mittheilen, besonders da eine Angabe hierüber im Allgemeinen in der Litteratur nicht zu finden ist. Durch Anwenden desselben Verfahrens, wie bei der Untersuchung der Hornhaut, konnte auch die Sehnenhaut in zwei Bestandtheile zerlegt werden: eine Mukoïdsubstanz, die wenigstens in qualitativer Hinsicht keine Abweichung von Corneamukoid zeigte, und Collagen, das ein Glutin mit typischen Reactionen und ungefähr demselben Stickstoffgehalt wie Corneaglutin gab.

Präp. I. Skleraglutin. Extractionsflüssigkeit: 1 proc. Ammoniak.

0,216 gr. = 17,22 % Stickstoff,
 (0,583 » = 1,89 % Asche).

Soweit man also aus dieser preliminären Untersuchung urtheilen kann, scheint die Art der Proteïnsubstanzen in der

Sehnenhaut dieselbe zu sein wie die der Hornhaut. In Betreff des Verhältnisses zwischen Collagen und Mukoïd dürfte dagegen eine Verschiedenheit insoweit herrschen, als das Mukoïd der Sclera in geringerer Menge vorkommt. Eine Stickstoffbestimmung der ganzen Sehnenhaut gab nämlich folgendes Resultat:

$$\begin{aligned} 0,177 \text{ gr.} &= 16,66 \% \text{ Stickstoff,} \\ (0,6575 \text{ »}) &= 0,84 \% \text{ Asche).} \end{aligned}$$

Vorausgesetzt, dass das Scleramukoïd mit dem Corneamukoïd identisch oder wenigstens an Stickstoffgehalt gleich ist, würden die Proteinstoffe der Sehnenhaut sich also auf 13% Mukoïd und 87% Collagen vertheilen und das Collagen also ungefähr $\frac{7}{8}$ des Ganzen ausmachen.

2. Das Epithellager der Hornhaut.

Das Epithellager, welches die äussere Oberfläche der Hornhaut bekleidet und das aus mehrschichtigem Pflaster-epithel gebildet wird, ist bis jetzt nicht allein niemals der Gegenstand einer besonderen chemischen Untersuchung gewesen, sondern ist auch bei Untersuchungen der Hornhaut-Grundsubstanz in einem solchen Grade übersehen worden, dass daraus wirkliche Irrthümer entsprungen sein mögen.

Ohne Zweifel muss man auch zugestehen, dass eine Untersuchung des Epithellagers an und für sich wenig Interessantes bot und dass sie eigentlich nur dadurch einen Werth erhielt, dass sie gewisse Angaben über das Vorkommen von Eiweisskörpern in der Grundsubstanz der Hornhaut in neue Beleuchtung setzte.

Das zur Untersuchung nöthige Material wurde beim Präpariren der Hornhaut-Grundsubstanz als Abfallsproduct in nicht unbedeutender Menge gewonnen und bildete eine grau-weiße, breiige Masse. Durch Extraction der Masse mit 0,01 proc. Ammoniak (1 cbcm. pro Hornhaut) bei Zimmertemperatur und Filtriren der Mischung nach einigen Stunden wurde ein Filtrat erhalten, das bei vorsichtigem Zusatz von verdünnter Essigsäure oder bei Einleiten von Kohlensäure eine reichliche, feinflockige Fällung gab. Nachdem die Fällung gewaschen war,

wurde sie mit so wenig wie möglich Alkali in eine klare Lösung verwandelt, die folgendes Verhalten zeigte:

Die Lösung coagulierte beim Kochen und gab die gewöhnlichen Fällungs- und Färbereactionen des Eiweiss. Bei Sättigung mit Magnesiumsulfat bei 30° C. oder beim Zusatz des gleichen Volumens gesättigter, neutral reagirender Ammoniumsulfatlösung entstand flockige Fällung und im Filtrat hiervon konnte kein Eiweiss nachgewiesen werden. Sättigung mit Kochsalz bei Zimmertemperatur brachte eine sparsame Fällung hervor.

Die durch verdünnte Essigsäure oder Kohlensäure hervorgerufene Fällung war äusserst leicht löslich im geringsten Ueberschuss an Essigsäure, ebenso wie sie beim Zusatz eines Neutralsalzes, z. B. Kochsalz, Natriumacetat, augenblicklich bis auf einen sehr unbedeutenden Rest gelöst wurde. Die Coagulationstemperatur für eine solche Lösung ($\frac{1}{4}$ gesätt. NaCl) wurde bei drei verschiedenen Versuchen auf 75°, 76° resp. 78° C. bestimmt.

Mit Salzsäure zu 0,2% und Pepsin versetzt ergab die Lösung unter Digestion bei 40° C. keine Fällung (Nuclein).

Die Stickstoffbestimmung der mit Essigsäure ausgefällten Substanz (0,180 gr.) ergab 15,58% Stickstoff.

Dass es sich hier um eine Globulinsubstanz handelt, ist somit klar, und was die Art derselben betrifft, dürfte sie mit grosser Wahrscheinlichkeit für identisch mit Paraglobulin gehalten werden. Unter den Eiweisskörpern des Epithellagers nimmt dieses Globulin durch seine auffallende Reichlichkeit den vornehmsten Platz ein und, da es beim Auslaugen der ganzen Hornhaut in das Extract übergeht, kann man mit Bestimmtheit annehmen, dass dies die Veranlassung zu den in der Litteratur befindlichen Angaben über das Vorkommen von Paraglobulin in der Grundsubstanz oder den Zellen der Hornhaut gewesen ist (s. S. 226).

Wurde die Epithelmasse während eines Tages mit $\frac{1}{4}$ gesättigter Kochsalzlösung extrahirt, so erhielt man ein Filtrat, aus welchem durch Verdünnen mit Wasser eine äusserst geringe Menge grauweissen, fadenziehenden Schleimes von eigenthümlichem Aussehen ausgefällt wurde. Eine nähere

Untersuchung dieser Substanz war in Folge ihrer geringen Quantität unmöglich zu bewerkstelligen. So viel liess sich jedoch mit Leichtigkeit feststellen, dass sie sich bei Zusatz von ein wenig Kochsalz klar löste, dass diese Lösung beim Aufkochen coagulierte und beim Sättigen mit Kochsalz sich aufs Neue in grobfaserigen Flocken ausschied, wodurch es sicher scheint, dass hier ein Globulin vorliegt, welches in Hinsicht auf das Aussehen der Fällung und deren Verhalten zu Kochsalz an Myosin erinnert, wenn sich auch die Identität nicht feststellen liess.

Es scheint mir unzweifelhaft, dass Bruns¹⁾ diese dem Epithellager zugehörige Substanz unter dem Namen Myosin versteht, und, da er es versäumt hat, das Epithellager bei der Untersuchung der Grundsubstanz zu entfernen, den Zellen der Grundsubstanz zuschreiben zu können meint.

Bruns schreibt hierüber: «Der Nachweis des Myosins, wie er wiederholt ausgeführt wurde, geschah in folgender Weise: die sorgfältig von der Sclerotica abgetrennten und feinzerschnittenen Corneae werden mit gesättigter Chlornatriumlösung 24 Stunden stehen gelassen, darauf filtrirt und mit Chlornatriumlösung ausgewaschen. Der Rückstand wird ausgepresst, mit wenig destillirtem Wasser 24 Stunden stehen gelassen und dann völlig klar abfiltrirt. Das Filtrat gibt mit grosser Menge destillirten Wassers einen Niederschlag, der in nicht concentrirter (nicht über 10% ClNa enthaltender) Chlornatriumlösung und in (1 pr. Mille) salzsäurehaltigem Wasser löslich ist. In Letzterem geht das Myosin allmählig in Syntonin über: die Lösung gibt einen Niederschlag mit kohlensaurem Natron und ist unlöslich in Chlornatriumlösung. Ausser dem Myosin, das also von den Hornhautkörperchen stammt, liess sich noch ein zweiter Eiweissstoff nachweisen. . . . Dieser Eiweisskörper stellt ein Alkali-Albuminat dar, . . .»

Unter genauer Befolgung des von Bruns vorgeschriebenen Verfahrens habe ich beim Behandeln der vom Epithel befreiten Grundsubstanz keine Spur von «Myosin» zu entdecken vermocht, nicht einmal in einem Material von mehreren Hundert

¹⁾ Loc. cit.

Hornhäuten; dagegen ist es mir bei Benutzung der ganzen Hornhaut oder des Epithels allein immer gelungen. Uebrigens geht aus Bruns eigener Darstellung hervor, dass er ebenso wenig wie der Verfasser die Identität dieser Globulinsubstanz mit Myosin festgestellt haben kann, da es erst unter Benutzung eines unerhört reichlichen Materials möglich wäre.

In dem Epithellager der Hornhaut gibt es also zwei Globulinsubstanzen. Die eine, wahrscheinlich identisch mit Paraglobulin, ist reichlich repräsentirt, die andere, wenn sie auch infolge ihrer charakteristischen Beschaffenheit leicht nachzuweisen ist, kommt dagegen nur in äusserst geringer Menge vor.

Wenn auch diese Beobachtungen an und für sich unwichtig sind, so sind sie doch insofern beachtenswerth, als sie deutlich zeigen, wie nothwendig es ist, bei physiologisch-chemischen Untersuchungen die Zerlegung der Gewebe in einzelne Bestandtheile, soweit ihre anatomische Beschaffenheit und die zu Gebote stehenden Hilfsmittel es nur irgend gestatten, zu treiben, um Missverständnissen vorzubeugen.

3. Die Descemetische Haut.

Nachdem zwei verschiedene Lager der Hornhaut, die Grundsubstanz und das Epithellager, jedes für sich, behandelt worden sind, wäre es am natürlichsten, nun zur Betrachtung des noch fehlenden Theiles, der Descemetischen Haut, überzugehen. Indessen verriethen, wie wir in einer folgenden Abtheilung erfahren werden, die Descemetische Haut und die Kapselmembrane der Linse eine vom chemischen Gesichtspunkte so unverkennbare Aehnlichkeit, und haben so viel mit einander gemeinsam, dass sie am besten in einem gemeinsamen Kapitel abgehandelt werden. Auch in histologischer Hinsicht weisen sie, wie bekannt, Uebereinstimmung mit einander auf, und sind deshalb mit einigen anderen gleichartigen Bildungen zur Gruppe der sogen. Glasmembranen vereinigt worden.

Die Descemetische Haut und die Linsenkapsel können deswegen am besten in einer gemeinsamen Rubrik: «Die Glasmembranen der lichtbrechenden Medien» vereinigt werden, über welche im nächsten Abschnitt berichtet werden soll.