

Beiträge zur Kenntnis des Collagens.

Von

August Ewald.

(Aus dem Physiologischen Institut zu Heidelberg.)
(Der Redaktion zugegangen am 23. März 1919.)

I. Über die Quellung und Verkürzung der leimgebenden Fibrillen des Bindegewebes in heißem Wasser.

Es ist wohl eine der charakteristischsten Eigenschaften der collagenen Fibrillen des Bindegewebes, daß sie in kochendem Wasser unter bedeutender Verkürzung plötzlich mit großer Kraft zusammenschnurren und dabei gleichzeitig dicker und glasig durchscheinend werden. Andere Gewebelemente, wie z. B. Muskelfasern, zeigen wohl auch eine Verkürzung beim Kochen, doch ist diese nicht mit glasiger Quellung verbunden und nur sehr gering, in gar keinem Vergleich mit der starken Verkürzung der Bindegewebsfibrillen, die sich bis auf $\frac{1}{4}$, in durch Verdauung gereinigtem Zustande sogar auf $\frac{1}{10}$ der ursprünglichen Länge verkürzen können. Bekanntlich tritt dieses Schnurren schon ein, bevor der Siedepunkt des Wassers erreicht ist, nach Rollet¹⁾ schon bei Temperaturen zwischen 60—70° C. Hermann²⁾ fand, daß bis 65° eine Sehne noch vollkommen unverändert bleibt, daß fast genau bei 65° eine mächtige Verkürzung beginnt, die sich bis etwa 75° vollendet.

Vielfache Versuche, die ich in dieser Beziehung angestellt habe, haben nun, wie die folgenden Untersuchungen zeigen werden, ergeben, daß eine genaue Bestimmung der Temperatur-

¹⁾ A. Rollet, Von den Binde-Substanzen, Stricker's Handbuch der Lehre von den Geweben, Bd. I, S. 54 (1871).

²⁾ L. Hermann, Ein Versuch über die sog. Sehnenverkürzung, Arch. f. d. Ges. Physiologie, Bd. VII, S. 417.

grenze, bei der das Schnurren eintritt, sehr schwer ist, da dabei auch ganz wesentlich die Zeit der Einwirkung der betreffenden Temperatur zu berücksichtigen ist, denn auch schon bei etwas niederen Temperaturen treten bei längerer Einwirkung Verkürzungen ein. Es hängt deshalb, wenn man durch allmähliches Erwärmen des Wassers die Temperaturgrenze bestimmen will, auch sehr davon ab, mit welcher Geschwindigkeit das Erwärmen vor sich geht. Um genaue Resultate zu erhalten, hauptsächlich wenn es sich darum handelt, etwa die Veränderungen, welche durch die vorherige Einwirkung verschiedener Reagentien gesetzt sind, zu untersuchen, wird man deshalb eine ganze Anzahl Beobachtungen machen müssen, bei welchen das Wasser möglichst konstant auf bestimmter Temperatur gehalten wird, und dabei auch die Zeiten bestimmen, in welchen das Schnurren in demselben erfolgt. Es ist auch bei vergleichenden Beobachtungen nötig, zu berücksichtigen, von welchen Tieren die Versuchsobjekte genommen sind, da sich auch bezüglich der Temperaturgrenzen bei verschiedenen Tierklassen Verschiedenheiten ergeben haben.

Versuche mit frischen Mäuseschnen.

Die ersten Versuche, um die Temperaturgrenze zu bestimmen, bei welcher das Schnurren der Bindegewebsfibrillen erfolgt, hatte auch ich so angestellt, daß ich frische Sehnen in Wasser versenkte, dessen Temperatur allmählich gesteigert wurde. Als Versuchsmaterial dienten die haarfeinen Sehnen des Mäuseschwanzes, ein Objekt, das zuerst von Ranvier empfohlen wurde. Solche sind leicht jederzeit in größeren Mengen zu haben und sind auch für messende Versuche lang genug. Deshalb sind auch alle vergleichenden Versuche über den Einfluß von Reagentien mit Mäuseschnen ausgeführt¹⁾.

¹⁾ L. Ranvier's technisches Lehrbuch der Histologie, übersetzt von Nicati und Wyss, Leipzig: F. C. W. Vogel 1877, S. 330. „Der Schwanz einer Maus oder einer Ratte, nahe an seiner Basis durchschnitten, wird von der Haut entblößt. (Die Haut läßt sich wie ein Handschuhfinger abstreifen. Ew.) Dann kneift man mit den Fingernägeln das Ende dieses Schwanzes im Zwischenraum zwischen zwei Wirbeln durch, so daß die weichen Ge-

Bei mäßig langsamem Erwärmen des Wassers begann bei etwa 65° die Sehne sich langsam unter leichten Krümmungen etwas zu verkürzen, dann sich unter stärkerer Kräuselung weiter zusammenzuziehen, und schließlich auf etwa $\frac{1}{4}$ der ursprünglichen Länge zusammenschnurren, wobei sie dicker wird und glasig aufquillt. Wurde das Erwärmen des Wassers sehr langsam vorgenommen, so begann die langsame Verkürzung mitunter auch schon früher, zwischen 63 und 64°. Es wurden deshalb, wie oben erwähnt, die Versuche nun immer so angestellt, daß das Wasser auf bestimmte Temperatur erwärmt und auf dieser möglichst konstant erhalten wurde, was aber bei höheren Temperaturen immer eine gewisse Schwierigkeit hat, so daß die angegebenen Temperaturen während des Versuches manchmal um $\frac{1}{2}$ Grad auf- oder abwärts geschwankt haben.

Wenn nun bei solchen Versuchen eine frische Mäusesehne in Wasser von 65° gebracht wurde, so erfolgte direkt beim Eintauchen noch kein Schnurren, erst nach einiger Zeit kräuselte sich die Sehne und schnurrte dann unter Aufquellen und Glasigwerden auf $\frac{1}{4}$ der Länge zusammen. Auch in Wasser von 67° schnurrte die Sehne nicht direkt, war aber doch schon nach 10 Minuten maximal, d. h. etwa auf $\frac{1}{4}$ verkürzt und glasig gequollen. In Wasser von 69° schnurrte sie fast sofort und in solchem von 70° sofort bis zu maximaler Verkürzung.

Bei einer weiteren Versuchsreihe wurden, um die Verkürzungsgröße genauer zu bestimmen, die Sehnen vorher und nachher gemessen. Um mit anderen ähnlichen Versuchen einen leichteren Vergleich zu haben, gebe ich in folgenden und überhaupt bei allen anderen messenden Versuchen nicht die wirkliche Länge an, sondern diese umgerechnet auf eine ursprüngliche Länge von 100 mm; also die Verkürzungen direkt in Prozenten der ursprünglichen Länge.

In Wasser von 60° war die Sehne auch nach 5 Minuten noch unverändert. In solchem von 63° war sie nach $\frac{1}{2}$ Minute noch unverändert, nach 1 Minute war sie wellig geknickt und von 100 mm auf etwa 60 verkürzt, aber noch vollkommen opak. Nach 3 Minuten war sie

webe zerreißen. Die Sehnen leisten Widerstand und, wenn man an dem abgelösten Stück einen sanften kontinuierlichen Zug anwendet, erhält man weißliche, mehrere Zentimeter lange Fäden, die aus einigen vereinigten Sehnen bestehen.* — Am besten leitet man die Sehnen direkt in physiologische Kochsalzlösung oder die Fixierungsflüssigkeiten. Da man immer wieder neue Wirbel abkneifen kann und man bei jedem Abkneifen etwa 4 haarfeine Sehnen erhält, so kann man leicht 50—60 solcher Sehnen aus einem Schwanz bekommen. Die längsten können bei der Maus bis 8 cm, bei den beiden Rattenarten (*Mus rattus* und *decumanus*) bis etwa 17 cm betragen. (Ew.)

etwas durchsichtiger geworden und auf 34 verkürzt. In Wasser von 65° bleibt eine Sehne $\frac{1}{4}$ Minute unverändert, nach $\frac{1}{2}$ Minute ist sie wellig geknickt und nach 1 Minute auf 26 verkürzt, dabei glasig gequollen. In solchem von 68° ist sie in etwa 15 Sekunden maximal, d. h. auf 26 geschnurrt und in solchem von 70° geht sie sofort unter schnellem Kräuseln in etwa 2 Sekunden auf 26 zusammen. Dasselbe tritt ein bei allen höheren Temperaturen bis zum Siedepunkt.

Die maximale Verkürzung, die erreicht wird, ist also 26% der ursprünglichen Länge, also fast genau $\frac{1}{4}$ derselben. Die Verkürzung erfolgt unter raschem Zusammenschnurren sofort bei Temperaturen von 69° und höher, aber auch bei etwas niedrigeren Temperaturen bis zu 65° herab wird die maximale Verkürzung noch erreicht, wenn die Erwärmung länger dauert.

Versuche mit reinem Collagen.

Wenn auch die frischen Sehnen des Mäuseschwanzes zum größten Teil aus collagenen Fibrillen bestehen und im allgemeinen zu Versuchen über die Reaktionen des Collagens verwendet werden können, so ist doch zu bedenken, daß außerdem noch elastische Fasern darin vorhanden sind, daß ferner Zellstränge zwischen den Fibrillenbündeln liegen, und endlich die Fibrillen durch mucinogene Kittsubstanz verbunden sind und, da sich alle diese Einlagerungen bei höherer Temperatur doch ganz anders verhalten als das Collagen, besonders das Zellprotoplasma doch jedenfalls bei höheren Temperaturen gerinnt, so ist fast sicher vorauszusehen, daß diese Zwischenlagerungen störend auf die Zusammenziehung einwirken werden. Es ist ja schon lange bekannt und von Rollet¹⁾ schon genauer beschrieben, daß die mit dem Zusammenschnurren verbundene Heißwasserquellung der collagenen Fibrillen durch mechanisches Gestreckthalten verhindert werden kann. Es mußten deshalb die Versuche auch an reinem Collagen, wie wir es durch Trypsinverdauung erhalten können, kontrolliert werden. Die ersten Versuche derart waren gemacht mit Mäuseschnehen, die in thymolisierten, schwach alkalischer Trypsinlösung verdaut und dann in Thymolwasser aufgehoben waren. Es schien daraus hervor-

¹⁾ Rollet, loc. cit. S. 54.

zugehen, daß das Collagen nach der Verdauung eher etwas schwerer bei der Erwärmung schnurre als das frische. Beobachtungen bei Quellungsversuchen in verschiedenen Säuren hatten mir aber gezeigt, daß Thymol und ähnliche Körper die Quellungsfähigkeit in Säuren deutlich vermindert hatte. Es wurde deshalb auch hier zunächst dessen Einfluß allein bezüglich der Quellungstemperatur untersucht. Es wurden deshalb Mäusesehnen in mit Thymol versetzter halbprozentiger Kochsalzlösung 24 Stunden bei 40° gehalten und dann noch einige Tage in thymolisierter halbprozentiger Kochsalzlösung aufgehoben. Solche zeigten auch eine, wenn auch geringe Erhöhung der Temperaturgrenze. — Um den Einfluß des Thymols auszuschließen, wurden deshalb Mäusesehnen, um die Verdauung möglichst schnell ausführen zu können, in ganz frisch und zwar ohne Thymol bereiteter Trypsinlösung 24 Stunden verdaut, da in den ersten 24 Stunden die Trypsinlösungen immer ganz wesentlich wirksamer sind als schon am zweiten Tage. Die hier verwendete Trypsinlösung brachte eine vorher auf 40° erwärmte Fibrinflocke in einer Minute vollkommen zum Zerfall und hatte sie bis auf Spuren gelöst.

Auf solche Weise vereinigt Collagen schnurrte nun entschieden schon bei niederen Temperaturen und die Verkürzung war ganz wesentlich stärker als bei unverdauten frischen Sehnen.

Während letztere in Wasser von 60° auch bei längerem Erwärmen keine Veränderung zeigten, so erfolgte bei dieser Temperatur bei einer verdauten Sehne schon eine langsame Verkürzung, so daß sie nach einer Minute auf 87 und nach 2 Minuten auf 62% verkürzt war. Frische Sehnen zeigten bei 63° zwar Verkürzung, aber keine maximale, eine verdaute zieht sich dabei, und zwar ohne Kräuseln, zusammen und ist nach 25—30 Sekunden auf ein ganz kleines dickes glasiges Stümpfchen zusammengeschnurrt. Eine genaue Messung ergibt, daß sich die Sehne dabei auf 9,6%, also auf weniger als $\frac{1}{10}$ zusammengezogen hat, eine Verkürzung, wie sie niemals bei frischen Sehnen erreicht wird. In Wasser von 65° fängt die verdaute Sehne schon nach 2 Sekunden an sich langsam zusammenzuziehen und ist nach 20 Sekunden auf 9,6 zusammengeschnurrt. Bei einer Temperatur von 70° ist schon in wenigen Sekunden eine maximale Verkürzung, und zwar von 9,3%, erreicht. In Wasser von 56° konnten auch die verdauten Sehnen mehrere Minuten erwärmt werden ohne zu schnurren, und in solchem von 54° zeigten sie selbst nach $\frac{1}{4}$ Stunde

noch keine Veränderung. Die untere Temperaturgrenze liegt also für das durch Verdauung gereinigte Collagen etwas unter 60° und über 56° .

Die Annahme, daß das Collagen durch die Trypsinverdauung selbst eine Änderung erfahren habe, worauf das leichtere und stärkere Schnurren beim Erwärmen zurückzuführen wäre, hat kaum eine Wahrscheinlichkeit für sich, da dasselbe alle sonstigen Reaktionen auch nach der Verdauung behalten hat, deshalb sind die Änderungen, die es nach Verdauung in seinem Verhalten gegen heißes Wasser zeigt, doch wohl darauf zurückzuführen, daß durch die Verdauung Elemente entfernt wurden, die hemmend auf das Schnurren einwirkten. Dabei würden zunächst die zelligen Elemente in Frage kommen, dann die elastischen Fasern, doch ist der Gehalt an diesen in den Mäuseschnehen verhältnismäßig gering.

Um das Protoplasma der Sehnenzellen zu entfernen, wurden Mäuseschnehen 24 Stunden mit 10prozentiger Kochsalzlösung behandelt und dann 2 Tage in Wasser ausgewaschen.

Solche Sehnen blieben bei 56° noch unverändert. Bei 60° begannen sie sich aber nach $\frac{1}{2}$ Minute schon zu krümmen, dann zogen sie sich unter Kräuseln zusammen auf $62,5\%$. Sie sind dabei noch opak. In Wasser von 63° haben sie sich unter Kräuseln in $1\frac{1}{2}$ Minuten auf 29 verkürzt und sind dabei ziemlich glasig gequollen. Bei 65° beginnt sich schon nach 5 Sekunden die Sehne zu kräuseln und in 1 Minute ist das Maximum der Kontraktion erreicht; sie ist glasig, dick und auf 25% verkürzt. Bei 70° ist bereits nach 4 Sekunden dieses Maximum erreicht. Diese Sehnen zeigten also ebenso wie die durch Verdauung gereinigten schon bei 60° den Beginn der Kontraktion, doch war der Grad der Verkürzung nie so bedeutend wie bei diesen. Bei Sehnen, die jedoch $\frac{1}{2}$ Jahr in 10prozentiger Kochsalzlösung gelegen hatten, zeigte sich neben der Herabsetzung der Quellungstemperaturgrenze auch stärkere Verkürzung. Es wurde dabei bei einer Temperatur von 65° schon eine Verkürzung auf weniger als 20% gefunden.

Wenn auch bei dieser Behandlung die kolossale Verkürzung wie bei den verdauten Sehnen nicht erreicht wurde, so zeigen diese Versuche doch, daß die reichlich eingelagerten Zellen gewiß mit eine der Ursachen sind, wodurch die frische Sehne sich weniger leicht kontrahiert als die vollkommen ausgedaute.

Verhalten der Sehnen anderer Tiere.

Da sich sowohl im Verhalten gegen verdünnte Säuren als auch bezüglich der Verdaulichkeit Verschiedenheiten bei Bindegeweben verschiedener Tierklassen gefunden hatten¹⁾, so war zu untersuchen, ob nicht auch Unterschiede beim Erwärmen vorhanden seien. Hauptsächlich das Froschcollagen hatte sich vom Säugetiercollagen dadurch unterschieden, daß es der Trypsinverdauung nicht widerstand.

Vom Frosch kann man in den Beugesehnen der Hinterpfoten ziemlich lange Sehnen erhalten, die sich auch für messende Versuche eignen. Man zieht von den Hinterbeinen die Haut ab und entfernt noch allenfalls an den Zehen haftende kleine Hautreste. Man schneidet dann im Hohlfuß die Sehnen durch, kneift das äußerste Zehenglied mit den Fingernägeln durch und kann dann mit leichtem Zug daran die Sehnen herausziehen.

Solche Froschsehnen zeigten nun auch eine Herabsetzung der Quellungstemperatur. In Wasser von 50° waren sie nach 10 Minuten noch unverändert, dagegen schon in solchem von 54° waren sie nach 3 Minuten etwas gekrümmt, nach 6 Minuten stärker gerollt und nach 10 Minuten auf 68,5% verkürzt. Dabei ist die Sehne noch im ganzen opak. Bei 60° ist die Sehne in 1/4 Minute gekräuselt, nach 1 Minute auf 33,3 verkürzt und dick glasig gequollen. In Wasser von 65° schnurren die Sehnen in 4—5 Sekunden auf 24, in solchem von 67° in 3 Sekunden auf 20%.

Nach diesen Versuchen schien das Froschcollagen schon bei wesentlich niedrigeren Temperaturen zu schnurren als das der Maus, doch waren diese Versuche nicht ganz beweisend, da die dazu benutzten Sehnen einem in der vorhergehenden Nacht gestorbenen, leicht totenstarrten Frosch entnommen waren und die Möglichkeit nicht ausgeschlossen war, daß die Unterschiede nur durch die dabei eintretende schwache Säurewirkung bedingt sein könnten. Die Versuche wurden deshalb nochmals mit vollkommen lebensfrischen Froschsehnen wiederholt.

In Wasser von 55° bleibt eine solche Sehne 3 Minuten unverändert, nach 4 Minuten war sie etwas gekrümmt, nach 10 Minuten hat sie sich

¹⁾ August Ewald, Zur Histologie und Chemie der elastischen Fasern und des Bindegewebes, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 26, N. F. 8 (1890). S. 51—54.

auf 83 verkürzt, ist dabei zum größten Teile noch opak. Bei 60° zieht sich eine Sehne nach 20 Sekunden unter Knickungen langsam zusammen und erreicht nach 2 Minuten 31,8% als maximale Verkürzung. Bei 62° ist das gleiche Maximum schon nach 1 Minute, bei 65° in $\frac{1}{2}$ Minute eine Verkürzung von 27% unter vollkommen glasiger Quellung und in Wasser von 68° ist in 9 Sekunden eine Verkürzung auf 22,4% erreicht.

Sind bei dieser Versuchsreihe die Unterschiede mit Mäuseschnen auch nicht ganz so groß wie die mit den Schnen des totenstarrten Frosches, so zeigen sie doch auch, daß das Froschcollagen schon bei wesentlich niedrigeren Temperaturen zu schnurren beginnt wie das der Mäuseschnen. Während bei letzteren Temperaturen von 60° noch ohne Einfluß waren, wurden Froschschnen schon durch 55° verändert. Auch wurden viel stärkere Verkürzungen erreicht.

Noch leichter angreifbar wie das Froschcollagen ist das der Fische, das schon in verdünnten Säuren in der Kälte rasch löslich ist¹⁾. Leider ist geeignetes Material zu genauen Versuchen schwer zu finden, da so lange, dünne, parallelfasrige Schnen wie bei Mäusen und Fröschen da nicht vorkommen. Doch fand ich unter den Wangenmuskeln der Barbe einen, der in eine freilich ziemlich dicke, aber doch etwa 12 mm lange Sehne ausläuft, die sich durch Zerzupfen in einzelne dünnere, etwa ebensolange Schnenstreifen zerlegen ließ. Das Zerzupfen geht zwar nicht ganz leicht und nicht ohne Zerreißen, da die Sehne nicht ganz parallelfasrig ist, sondern die Bündel etwas verflochten zu sein scheinen, aber es ließen sich doch genügend regelmäßige Streifen erhalten, um eine Versuchsreihe damit anzustellen.

Ein feines solches Schnenstreifchen ist in Wasser von 51° nach 2 Minuten noch unverändert, aber in solchem von 53° ist es nach 1 Minute schon etwa auf die Hälfte verkürzt, dabei aber noch etwas opak, noch nicht vollkommen glasig gequollen. In Wasser von 55° geht ein Bündel in etwa 40 Sekunden langsam zusammen, in solchem von 60° ist es in 6 Sekunden, bei 62° schon nach 3 Sekunden vollkommen glasig geschnurrt. Alle höheren Temperaturen zeigen das gleiche Verhalten.

Es liegt also bei Fischschnen die Temperaturgrenze eher noch tiefer als bei den Froschschnen, da schon bei 53° die Kontraktion beginnt und bei 62° eine maximale glasige

¹⁾ August Ewald, loc. cit. S. 51.

Verkürzung erreicht ist. Die maximale Verkürzung war aber selbst bei höheren Temperaturen nicht so groß wie bei Frosch- und Mäuseschollen, sie erreichte nur 30%. Dies ist wohl dadurch erklärlich, daß einmal die Sehne nicht vollkommen parallelfasrig ist und aus verflochtenen Bündeln besteht, und andererseits die mikroskopische Untersuchung ergab, daß sie sehr reich an Zellen ist, ganz auffallend viel reicher als die Frosch- und Mäuseschollen.

Vorbehandlung mit Säuren.

Die Versuche mit den Sehnen des totenstarren Frosches (voriger Abschnitt) hatten es nahegelegt, daß schon sehr geringe Säuremengen von Einfluß auf die Temperaturgrenze sein könnten. Es wurden deshalb Mäuseschollen in Salzsäure von $\frac{1}{1000}$ % eingelegt, bis sie gerade angequollen waren, was etwa in 10 Minuten erreicht war. Hierauf kamen sie in ein größeres Gefäß mit Wasser, um die Säure wieder zu entfernen. Sie waren trotzdem nach 24 Stunden noch nicht vollkommen abgequollen, denn sie waren immer noch etwas dicker als normal und etwas durchscheinender.

Solche Sehnen zeigten bei 46° noch kaum eine Veränderung, doch waren sie nach 3 Minuten schwach gekräuselt und ein ganz klein wenig auf 95%, verkürzt, aber schon in Wasser von 51° zogen sie sich langsam zusammen und erreichten nach 1 Minute eine Verkürzung auf 54%. In Wasser von 55° verkürzten sie sich in 30—40 Sekunden auf 38,7%, und in solchem von 58° in 25—30 Sekunden auf 33,3%. Bei einer Temperatur von 60° zieht sich eine solche Sehne unter Kräuslung sofort zusammen und hat in 20 Sekunden eine Verkürzung von 28%, bei 63° dieselbe Verkürzung in 10 Sekunden und bei 65° schon nach 6 Sekunden erreicht. In Wasser von 70° schnurrt sie in 3 Sekunden auf 26%. Bei den starken Kontraktionen sind die Sehnen dann auch glasig aufgequollen.

Diese Versuchsreihe zeigt also, daß schon sehr schwache Säurewirkungen, wenn dadurch einmal Quellung erzielt war, die Temperaturgrenze ganz wesentlich herabsetzen, denn während frische Mäuseschollen bei 60° noch ganz unverändert blieben, wurden hier schon bei 46° die ersten Veränderungen beobachtet, was also einer Herabsetzung der Temperaturgrenze um 14—15° entspricht.

Versuche über die Wirkung von Säuren stärkerer Konzentration habe ich nicht angestellt. Hierüber liegen aber schon ältere Versuche von Engelmann¹⁾ vor, die ergeben, daß, wenn man Sehnen in den Säuren erwärmt, die Verkürzung schon bei wesentlich niedrigeren Temperaturen beginnt und auch früher ihr Maximum erreicht. Er verwendete Essigsäure von 7% und Salzsäure von 1%.

Es war nun von Interesse zu wissen, wie sich Sehnen verhalten, die zwar mit Säure behandelt wurden, wobei aber die Quellung durch den nötigen Gehalt der Lösung an Kochsalz verhindert wurde. Es wurden deshalb Mäuseschienen in eine 1%ige Essigsäure, die gleichzeitig 5% Kochsalz enthielt, 24 Stunden eingelegt. Dann wurden sie mit 5% Kochsalzlösung ausgewaschen. Die Sehnen waren nicht gequollen, doch quollen Probestückchen davon nach Übertragen in Wasser noch auf. Selbst weitere 24stündige Einlage in 10%ige Kochsalzlösung erzielte noch nicht, daß sie in Wasser nicht mehr quollen. Sie wurden deshalb nochmals in 5%iger Kochsalzlösung ausgewaschen, die 0,25% Soda enthielt. Nun trat keine Quellung mehr im Wasser ein.

Nach gründlichem Waschen in Wasser zeigte eine solche Sehne bei 56° keine Veränderung, in solchem von 59° war sie auch nach 2 Minuten kaum verändert, nach 4 Minuten hatte sie sich ein ganz klein wenig verkürzt auf etwa 90%. Bei einer Temperatur von 63° wurde sie nach 45 Sekunden gekräuselt und nach 2 Minuten schien das Maximum der Zusammenziehung erreicht; sie war dabei glasig durchsichtig und auf 28,8% verkürzt. In Wasser von 65° geht eine Sehne in 30 Sekunden auf 26%, in solchem von 68° sofort auf 22,6% zusammen.

Solche Sehnen, bei denen also die Säurequellung durch Kochsalz verhindert war, zeigten demnach mit frischen verglichen kaum eine Veränderung, denn die geringe Herabsetzung der Temperaturgrenze und die etwas stärkere Kontraktion können nicht auf die Säurewirkung bezogen werden, da gleiche Veränderungen ja auch schon durch 10%ige Kochsalzlösung allein erzielt wurden.

¹⁾ Th. W. Engelmann, Bemerkungen zur Theorie der Sehnen- und Muskelverkürzung, Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 8, S. 95 (1874).

Ich möchte hier noch einige Versuche anführen, bei denen die Sehnen in Säuren höherer Konzentration eingelegt waren, und zwar in solche Konzentrationen, bei welchen nach früheren Versuchen auch ohne Kochsalz keine Quellung eintrat. Es sind dies die stärkeren Säuregrade der Salzsäure und Salpetersäure. Es wurden zwar bei diesen Versuchen keine genauen Messungen angestellt, doch waren direkt Parallelversuche mit frischen Sehnen gemacht, so daß sie doch verwertet werden können.

Frische Sehnen der Maus wurden 2 Tage in Salzsäure von 2% gelegt, in der keine Quellung erfolgte. Dann wurden sie 2 Tage lang in vielfach erneuter 10%iger Kochsalzlösung ausgewaschen, bis keine Quellung mehr erfolgte, wenn sie dann in Wasser übergeführt wurden. In gleicher Weise wurden Sehnen mit Salpetersäure von 4% behandelt.

Beide verhielten sich bei Temperaturen von 65° und 67° genau wie frische Sehnen. Bei 67° wurde bei allen dreien in etwa 10 Sekunden die maximale Kontraktion erreicht. Während aber die frischen Sehnen bei 69° fast sofort schnurrten, so erfolgte dies bei den beiden mit Säuren behandelten etwas langsamer. Bei 70° schnurrten alle drei sofort maximal zusammen.

Also trotz der zwei Tage lang dauernden Einwirkung der starken Säuren sind hier, wo Quellung überhaupt nicht eingetreten war, kaum bemerkbare Unterschiede mit frischen Sehnen vorhanden, ja wo solche gefunden wurden, trat die Wärmewirkung eher etwas weniger schnell ein.

Vorbehandlung mit Alkalien.

Es kam dazu eine ganz verdünnte Natronlauge zur Verwendung mit einem Gehalt an NaOH von $\frac{1}{50}$ %. Es war dies die niedrigste Konzentration, bei der gerade noch Quellung erfolgte. In solcher Lauge quollen Mäuseschneen in etwa 2 Minuten gerade bis zum Durchsichtigwerden an. Sie kamen dann sofort in Wasser, in dem sie schnell wieder abquollen. Nachdem sie 24 Stunden in Wasser gelegen hatten und wieder vollkommen opak wie frische aussahen, wurden sie zu den Versuchen benutzt.

Eine solche Sehne bleibt in Wasser von 58° auch nach 2 Minuten langem Erwärmen vollkommen unverändert. In Wasser von 60° zeigt

sie während $\frac{1}{2}$ Minute keine Veränderung, dann beginnt sie sich zu kräuseln und zieht sich zusammen. Nach 2 Minuten ist sie stark gekräuselt, zusammengeknäuel, aber noch opak, und ergibt eine Verkürzung von 62,8 %. In Wasser von 63° zieht sie sich rasch unter Kräuseln zusammen und ist nach 1 Minute auf 29,4 % verkürzt, aber noch opak. Bei 65° zieht sie sich sofort zusammen und hat in 20—30 Sekunden eine Verkürzung auf 22,8 % erreicht. Dabei ist sie glasig gequollen und etwas klebrig. In Wasser von 70° ist die maximale Verkürzung schon nach 3 Sekunden erreicht.

Es ergibt sich also, daß auch geringe Alkalimengen, welche gerade noch Quellung erzeugt hatten, auch wenn die Quellung sofort wieder rückgängig gemacht wurde, das Quellen und Schnurren in heißem Wasser etwas beförderten.

Für stärkere Alkalilösungen hat Engelmann schon gezeigt¹⁾, daß wenn man Sehnen darin erwärmt, schon bei verhältnismäßig niederen Temperaturen starke Verkürzung eintritt. So erhielt er in Kalilösung von 15 % schon bei 38° eine maximale Verkürzung auf 35 % (die Engelmannschen Zahlen habe ich, um sie mit meinen vergleichen zu können, auch auf Prozente der ursprünglichen Länge umgerechnet). In Kalilösung von 5 % fand er bei 45° Verkürzung auf 55 %, bei 55° auf 19,5 %. Doch ist bei diesen Versuchen zu berücksichtigen, daß in den starken Kalilaugen auch bei Zimmertemperatur starke Quellung erfolgt, bei der auch schon Verkürzungen auf 90—80 % zu beobachten sind.

Es fragte sich nun weiter, ob eine Vorbehandlung mit Mitteln, die wir gewöhnlich zum Härten oder Fixieren der Gewebe verwenden, die also meistens koagulierend auf die Eiweißkörper des Protoplasma wirken, auch auf das Collagen bezüglich der Quellungstemperatur einen Einfluß haben.

Vorbehandlung mit Alkohol.

Mäuseschollen, die 2 Jahre in Alkohol absolut. gelegen hatten, wurden 1 Stunde in Wasser ausgewaschen.

Sie zeigten dann in Wasser von 58° keine Veränderung. In solchem von 60° war auch nach 3 Minuten noch keine Zusammenziehung zu bemerken, die Sehne war nur etwas gekrümmt. Nach 6 Minuten war sie jedoch stark zum Knäuel zusammengewellt; nach 12 Minuten ist das Aussehen ebenso und die Messung ergibt eine Verkürzung auf 43 %; nach 4 Minuten weiterer Erwärmung hat sie sich noch weiter verkürzt auf 32,7 %. In Wasser von 65° ist die Sehne nach 1 Minute gekräuselt.

¹⁾ Th. W. Engelmann, Bemerkungen zur Theorie der Sehnen- und Muskelverkürzung, Arch. f. d. Ges. Physiologie 1874, Bd. 8, S. 95.

auf 43 % verkürzt, nach 2 Minuten auf 31 %, nach 3 Minuten auf 24 % zusammengezogen; sie ist dabei trotz starker Verkürzung zwar etwas dicker, aber nicht wesentlich durchsichtiger geworden. Weiter erwärmt, hat sie sich nach im ganzen 5 Minuten Erwärmung noch etwa weiter bis auf 20,7 % verkürzt. In Wasser von 70° schnurren die Sehnen schnell auf 24 %. Sehnen des Rattenschwanzes, die ebenfalls 2 Jahre in Alkohol absolut. lagen, schnurren in Wasser von 70° sofort auf 30 %, nach 1 Minute auf 26 %. Dabei sind sie ebenfalls zwar verdickt, aber nicht völlig gequollen, sondern noch recht stark weißlich.

Wir sehen also aus diesen Versuchen, daß die lange Alkoholbehandlung zwar die Temperaturgrenze nicht wesentlich verändert hat. Dieselbe ist sogar eher etwas niedriger geworden, da schon bei 60° bei längerem Erwärmen Verkürzung eintritt, auch sind die Verkürzungen schon bei 65° sehr bedeutend. Wodurch sich aber die Alkoholsehnen von frischen unterscheiden, ist, daß z. B. bei der für frische Sehnen kritischen Temperatur von 65° die Zusammenziehung langsam erfolgt, daß aber bei längerem Erwärmen die Verkürzung doch schließlich noch größer wird als bei frischen. Dabei sind aber die Sehnen trotz der starken Verkürzung zwar verdickt, aber nicht völlig glasig gequollen, sondern sie behalten immer noch ein etwas opakes Aussehen.

Vorbehandlung mit Osmiumsäure.

Sehnen der Maus wurden 1 Minute in Osmiumsäure von $\frac{1}{2}$ % gelegt, dann 1 Stunde in Wasser ausgewaschen und in Wasser erwärmt.

Erst bei 84° begann das Zusammenschnurren und war bei 85° vollendet. Die Sehnen waren dabei auf etwa $\frac{1}{4}$ der Länge verkürzt, gequollen und hatten sich dabei stark gebräunt. Sehnen, die $\frac{1}{2}$ Jahr lang in $\frac{1}{2}$ %iger Osmiumsäure gelegen hatten, sahen dunkelschwarz aus. Nachdem sie 4 Stunden in Wasser ausgewaschen waren, schnurrten sie bei 84° schnell auf die Hälfte der Länge, bei 86° auf $\frac{1}{3}$ zusammen. Eine stärkere Kürzung trat nicht ein, auch nicht bei höherer Temperatur.

Wenn nun diese Versuche auch schon zweifellos ein starkes Hinaufrücken der Temperaturgrenze ergeben hatten, so war doch noch eine Versuchsreihe erforderlich, um diese Grenze und den Grad der Kontraktion zu bestimmen. Es wurden deshalb Mäusesehnen 24 Stunden mit $\frac{1}{2}$ %iger Os-

miumsäure behandelt, dann, um die Osmiumsäure möglichst vollständig zu entfernen, mit mehrfach gewechseltem Wasser ausgewaschen. So lagen sie etwa 4 Wochen in mehrfach erneuertem Wasser, bis sie zu den Versuchen verwendet wurden. Fäulnis oder Bakterienentwicklung war nicht eingetreten. Sie sahen fast ganz wie frische Sehnen aus, waren nur ganz leicht grau gefärbt, reflektierten aber so viel weißes Licht, daß sie ganz den weißen Atlasglanz wie frische hatten.

Eine solche Sehne bleibt in Wasser von 72° unverändert. In solchem von 88° schnurrt sie sofort auf 24 %, wird dabei durchsichtiger und stark gebräunt. In Wasser von 85° geht sie langsam unter Kräuseln zusammen und hat sich in $1\frac{1}{2}$ Minuten auf 20 % verkürzt. Bei 84° zeigt sie nach 5 Sekunden noch keine Veränderung; nach 10 Sekunden beginnt sie knickig zu werden und zieht sich in 1 Minute auf 26 %, in 2 Minuten auf 18,5 % zusammen. Die Sehne ist dabei verdickt, durchscheinend und gebräunt. In Wasser von 78° war nach 1 Minute noch keine Veränderung, nach 5 Minuten hatte sie sich aber etwas knickig zusammengezogen, nach 10 Minuten war sie stark knickig gekräuselt und war dabei auf 55,5 % verkürzt, aber nicht gequollen, sondern noch völlig opak.

Diese Versuche zeigten mithin, daß durch Osmiumsäure, selbst nach langem Auswaschen derselben, die Temperaturgrenze wenigstens um 15° hinaufgerückt war, daß aber dabei ebenso starke, ja noch stärkere Verkürzungen unter Quellung beobachtet wurden. Mall¹⁾ hat auch schon gefunden, daß durch Osmiumsäure die Temperaturgrenze hinaufgerückt ist.

Vorbehandlung mit Chromverbindung im Dunkeln und Hellen.

Nach Vorbehandlung mit Kaliumbichromat (3 %) und mit Chromsäure ($\frac{1}{30}$ %) ist, wenn die Behandlung und das nachfolgende Auswaschen mit Wasser im Dunkeln vorgenommen wurde, die Quellbarkeit des Collagen in verdünnter Salzsäure fast gar nicht verändert, standen aber die Sehnen während der Behandlung und während des Auswaschens im Hellen, so war die Quellungsfähigkeit nach Kaliumbichromat

¹⁾ F. Mall, Das retikulierte Gewebe und seine Beziehungen zu den Binde-substanzen, Abhandlungen der mathem.-phys. Klasse d. Kgl. Sächs. Gesellsch. d. Wissenschaften, Bd. XVII (XXIX) Nr. IV, S. 318. Leipzig, S. Hirzel, 1891.

stark herabgesetzt; in Salzsäuren von $\frac{1}{500}$ — $\frac{1}{4000}$ ‰, bei der frische Sehnen gerade noch anquollen, ganz aufgehoben und in solchen von $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{100}$ ‰ stark vermindert. Nach Chromsäurebehandlung im Hellen war die Quellbarkeit in Salzsäuren von 2 ‰— $\frac{1}{4000}$ ‰ vollkommen aufgehoben. Auch in verdünnter Essigsäure wurden solche Sehnen nicht mehr verändert, und wie ich schon früher beschrieben habe¹⁾, war Collagen nach Chromsäurebehandlung und Belichtung für Pepsin unverdaulich geworden. Auch bezüglich der Quellungstemperatur hat sich der gleiche Einfluß der Belichtung geltend gemacht.

Frische Mäuseschoten wurden in 3 ‰ige Lösung von Kaliumbichromat eingelegt und 8 Tage teils im Hellen, teils im Dunkeln gehalten. Dann kamen sie für 14 Tage in Wasser, welches mehrfach gewechselt wurde, und zwar wurden die dunkelgehaltenen auch im Dunkeln ausgewaschen. Von den Belichteten wurde ein Teil im Hellen, ein Teil aber auch im Dunkeln ausgewaschen. Letzteres, um zu untersuchen, ob und wie weit die Belichtung schon in der doch stark gelb gefärbten Chromatlösung gewirkt habe, oder ob der Einfluß des Lichtes durch die starke gelbe Färbung gehindert war.

Die belichteten und am Lichte ausgewaschenen Sehnen bleiben in Wasser von 69° 50 Sekunden lang unverändert, dann gehen sie langsam unter leichten Krümmungen zusammen, erreichen aber auch nach 2 Minuten nur eine Verkürzung auf 60 ‰ und bleiben opak. In Wasser von 72° schnurren sie in 15 Sekunden, in solchem von 75° in 10 Sekunden auf 30 ‰ und bei 85° sofort auf 27 ‰. Die belichteten, aber im Dunkeln ausgewaschenen bleiben in Wasser von 69° nur etwa 20 Sekunden unverändert, ziehen sich dann langsam unter Krümmen zusammen und haben nach 2 Minuten eine Verkürzung auf 30,6 ‰ erreicht, wobei sie schon ziemlich durchsichtig geworden sind. In Wasser von 72° und solchem von 75° sind sie in 10 Sekunden auf 25 ‰ zusammengeschnurrt und bei 85° schnurren sie sofort auf dieses Maximum der Verkürzung. Im Dunkeln gehaltene und im Dunkeln ausgewaschene Sehnen zeigen in Wasser von 60° nach 5 Minuten noch keine Verkürzung; in solchem von 64° sind sie nach 1 Minute noch kaum verändert, nach 2 Minuten sind

¹⁾ A. Ewald, Zur Histologie und Chemie der elastischen Fasern und des Bindegewebes. Zeitschrift für Biologie, Bd. 26, N. F. 8, S. 42 (1890).

sie nur auf 69 % verkürzt und noch opak. Bei 69° schnurren sie in 10 Sekunden, bei 72° in 5 Minuten, bei 75° sofort auf 25 % zusammen.

Es zeigen mithin diese Versuche, daß die Chromatbehandlung mit Belichtung einen ganz wesentlichen Einfluß auf die Quellung in heißem Wasser hat, denn die Temperaturgrenze ist wesentlich erhöht, auch ist die maximale Verkürzung geringer als bei frischen Sehnen. Es ergibt sich ferner, daß die starke gelbe Färbung der Chromatlösungen die Einwirkung des Lichtes behindert, denn die nachträglich im Dunkeln ausgewaschenen, vorher nur in der Chromatlösung belichteten Sehnen schnurren leichter und stärker als die auch im Hellen ausgewaschenen. Die im Dunkeln mit Chromat behandelten und auch im Dunkeln ausgewaschenen Sehnen zeigten kaum Unterschiede mit frischen Sehnen und diese würden wohl ganz verschwinden, wenn man beim Auswaschen, beim Wasserwechsel z. B., auch jede Belichtung sorgfältig vermied. Auch müßte man die Quellungsversuche im Dunkeln vornehmen, denn daß auch nach längerem Auswaschen im Dunkeln das Licht noch nachträglich auf Chromatdunkelsehnen einwirken kann, ergab sich aus folgenden Versuchen.

Wurden solche Sehnen etwa $\frac{1}{2}$ Stunde der Sonne ausgesetzt, so brauchten sie bei 70° 20 Sekunden, um auf 25 % zusammenzuschnurren, kamen sie direkt aus dem Dunkelmzimmer, so hatten sie schon in 10 Sekunden das Maximum der Verkürzung erreicht.

Noch stärker als nach Kaliumbichromat erwies sich der Einfluß der Belichtung bezüglich der nachfolgenden Quellbarkeit in Säuren bei der Chromsäure. Es war dadurch die Fähigkeit, in Säuren zu quellen, gänzlich geschwunden und es war deshalb zu erwarten, daß sich auch in Bezug auf die Quellungstemperatur größere Unterschiede ergeben würden.

Ein Teil Mäuseschnehen wurde deshalb 8 Tage in Chromsäure von $\frac{1}{30}$ % im Dunkeln, ein anderer ebensolange im Hellen gehalten, dann 14 Tage in mehrfach gewechseltem Wasser der eine im Dunkeln, der andere im Hellen ausgewaschen. Dabei war nun schon direkt ein großer Unterschied zu bemerken. Die Dunkelsehnen waren weiß, die Hellschnehen bräun-

lichgelb gefärbt und die Versuche bei Erwärmen ergaben nun auch sofort ganz wesentliche Unterschiede.

Die Chromsäure-Dunkelsehnen gehen schon bei 61° langsam unter starkem Kräuseln etwas zusammen und erreichen eine Verkürzung auf 53%. Bei 63° sind sie in 1 Minute, bei 69° in 15 Sekunden auf 31% verkürzt. Bei 72° schnurren sie schnell in 8 Sekunden auf 29%, bei 78° in 4 Sekunden auf 26,4% zusammen; dabei sind sie durchsichtiger geworden, aber doch nicht gerade glasig gequollen. Bei den belichteten Sehnen beginnt die Einwirkung der Temperatur überhaupt erst bei 68–69°, und auch da ist sie noch minimal. Selbst nach 3 Minuten langem Erwärmen werden dabei die Sehnen nur schwach gekräuselt und sehen fast wie nicht erwärmte aus. Genaue Messungen ergaben eine geringe Verkürzung auf 94,1%. Auch bei 70° wurde in 1 Minute keine stärkere Verkürzung erreicht. Selbst bei 75° ist die Verkürzung nach 1 Minute erst 82,3%. Bei 80° wird eine solche Verkürzung in 20 Sekunden erreicht und auch bei längerem Erwärmen gehen die Sehnen nicht weiter zusammen. In Wasser von 87° geht die Sehne in 15 Sekunden auf 76,4% zusammen und in kochendem Wasser schnurren sie zwar sofort, aber auch da wird, selbst bei weiterem Kochen, nur eine Verkürzung von 65% erreicht. Dabei werden aber die Sehnen nicht durchsichtig, sie bleiben opak, werden auch nicht dicker, sondern eher dünner. Mikroskopisch untersucht sind sie trübe, stark streifig und bei leichtem Zerklopfen, aber auch schon ohne dieses, sind überall die Fibrillen ungequollen zu sehen.

Also auch hier zeigen die dunkel gehaltenen Sehnen keine großen Unterschiede mit frischen Sehnen, denn die Temperaturgrenze ist nicht hinaufgerückt, nur erfolgen im allgemeinen die Zusammenziehungen etwas langsamer und sind nicht so stark, doch werden bei hohen Temperaturen doch auch solche Grade der Verkürzung erreicht wie bei frischen Sehnen, und möglicherweise beruhen auch hier die Unterschiede darauf, daß eine Lichteinwirkung nicht vollkommen vermieden war. Denn daß Belichtung bei Chromsäuresehnen eine ganz evidente Wirkung hat, ergeben diese Versuche, indem nicht allein die Grenztemperatur wesentlich höher ist, sondern auch niemals, selbst beim Kochen nicht, größere Verkürzungen beobachtet wurden. Während sich die dunkel gehaltenen Sehnen, wie frische, auf etwa $\frac{1}{4}$ der Länge verkürzten, ging die Kontraktion der belichteten nie über $\frac{2}{3}$ der ursprünglichen Länge hinaus.

Vorbehandlung mit Tannin.

Daß solche Mittel, die zur Gerberei verwendet werden, auf die Quellbarkeit des Bindegewebes Einfluß haben, war vorauszusehen. Durch Behandlung mit Tanninlösungen von 5 und 10 %* wird die Quellungsfähigkeit in verdünnten Säuren stark beeinträchtigt. So ist sie für Salzsäure in allen Verdünnungen von $\frac{1}{50}$ — $\frac{1}{4000}$ % aufgehoben. Dementsprechend ergibt sich auch bezüglich der Wirkung heißen Wassers ein ganz wesentlicher Einfluß.

Mäuseschollen, die 24 Stunden in frisch bereiteter 5%iger Tanninlösung gelegen hatten, dann 1 Stunde lang in mehrfach gewechseltem Wasser ausgewaschen waren, zeigten in Wasser erwärmt bis zu Temperaturen von 80° keinerlei Veränderungen. Erst in Wasser von 83° begannen sie sich unter Kräuseln langsam zusammenzuziehen. Bei 86° gehen sie langsam, bei 89° schnurren sie schnell auf $\frac{1}{4}$ der Länge. Dabei werden sie aber kaum dicker, sind auch nicht glasig gequollen, sie nehmen dabei nur eine bräunliche Farbe an. Sehnen, die 24 Stunden in 10%iger Tanninlösung lagen, verhielten sich ganz ebenso. Auch Sehnen, die erst 2 Tage in alkalischem Trypsin verdaut waren, also aus reinem Collagen bestanden, dann 24 Stunden in 10%igem Tannin lagen, mehrere Stunden in Wasser ausgewaschen waren, zeigten erst bei gleich hohen Temperaturen die gleichen Veränderungen wie die unverdauten.

Vorbehandlung mit Tannin ergibt demnach eine ganz bedeutende Erhöhung der Grenztemperatur, von etwa 20°.

Um einen Überblick über die Resultate der vorbeschriebenen Versuche zu gewinnen, sind die Haupttatsachen nochmals in einer Tabelle zusammengestellt. In der ersten Spalte sind die niedrigsten Temperaturen aufgeführt, bei denen, wenigstens bei etwas längerer Erwärmung, überhaupt Verkürzung beobachtet wurde. In der zweiten Spalte sind die Grenztemperaturen, bei welchen, wenn auch erst bei längerer Erwärmung, zuerst die maximale Verkürzung erreicht wurde. Die dritte Spalte gibt die Temperaturen, bei denen sofort maximale Verkürzung eintritt. Die vierte Spalte endlich gibt die Länge der Sehnen nach der maximalen Verkürzung, berechnet auf Prozente der ursprünglichen Länge.

Vorbehandlung (Mäusesehenen, wenn nichts anderes bemerkt)	Niedrigste Temperatur, bei der Verkürzung eintritt	Grenz- temperatur, bei der zuerst maximale Verkürzung auftritt	Temperatur, bei der sofort die maximale Verkürzung erreicht wird	Maximale Verkürzung in Prozenten der ursprüngl. Länge	Bemer- kungen
Keine (also fri- sche Sehnen) . . .	63	65	69	26	
Durch Trypsin- verdauung ge- reinigt	56-60	63	65	9,6	
Froschsehnen . . .	54	—	68	22,4	
Fischsehnen (Barbe)	53	60	62	30	Sehne nicht ganz paral- lel fasrig
Kochsalz 10% . . .	60	—	65	20	
HCl $\frac{1}{1000}$ %	46	60	65	26-28	
Essigsäure 1% + 5% NaCl	59	65	68	22,6	
HCl 2% (ohne Quellung)	—	65	70	—	} Nicht genau gemessen, etwa wie bei frischen
Salpetersäure 4% (ohne Quellung)	—	65	70	—	
Natronlauge von $\frac{1}{50}$ % NaOH	60	65	—	22,8	
Alkohol	60	65	70	20,7	aber nicht ganz glasig gequollen
Osmiumsäure $\frac{1}{2}$ %	78	84	88	20	
Kaliumbichromat 3%, dunkel, dunkel ausge- waschen	64	69	75	25	
Kaliumbichromat 3%, hell, dunkel ausge- waschen	69 (auf 30% verkürzt)	72	85	25	
Kaliumbichromat 3%, hell, hell ausge- waschen	69 (auf 60% verkürzt)	75	85	27	
Chromsäure $\frac{1}{30}$ % dunkel	61	69	78	26,4	
Chromsäure $\frac{1}{30}$ % hell	68	(80)	87	76,4	bleiben opak
Tannin 5 u. 10%	83	86	89	25	

Besonders bemerkenswert ist die kolossale Verkürzung bei dem durch Trypsin gereinigten Collagen, und die bedeutende Erhöhung der Grenztemperaturen nach Vorbehandlung mit Osmiumsäure, Tannin und den Chromverbindungen, Kaliumbichromat und Chromsäure, mit Belichtung, bei letzterer Behandlung auch die ganz wesentliche Abnahme der Verkürzung, die anstatt der gewöhnlichen auf $\frac{1}{4}$ nur $\frac{3}{4}$ (selbst bei längerem Kochen nur $\frac{2}{3}$) der ursprünglichen Länge erreicht.

Es wird vielleicht auffallen, daß ich bei dieser Besprechung des Einflusses der Vorbehandlung mit verschiedenen Fixationsmitteln das jetzt wohl am meisten gebrauchte, das Formol, nicht berücksichtigt habe, aber meine Versuche damit haben so ganz eigentümliche Resultate ergeben, daß ich diese in einer demnächst erfolgenden speziellen Arbeit besprechen werde.