

Beiträge zur Kenntnis des Collagens. II.

Von
August Ewald.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Heidelberg.)
(Der Redaktion zugegangen am 23. März 1919.)

II. Über die Einwirkung des Formols auf die collagenen Fibrillen und eine neue histologische Reaktion des Collagens.

In meiner Arbeit: „Über die Quellung und Verkürzung der leimgebenden Fibrillen des Bindegewebes in heißem Wasser“¹⁾ habe ich gezeigt, daß einige der Mittel, die wir zum Fixieren und Härten von Geweben verwenden, wie z. B. Osmiumsäure, Kaliumbichromat, Chromsäure, ganz wesentlich die Temperaturgrenze, bei der die Bindegewebsfibrillen unter Zusammenschnurren quellen, nach oben verschieben können. Ich habe dabei die Einwirkung des jetzt fast am meisten verwendeten Fixationsmittels, des Formols, nicht mitbesprochen, weil sich diese als so abweichend von der Wirkung der andern Fixationsmittel gezeigt hatte, ja geradezu eine neue Reaktion des collagenen Gewebes ergeben hatte, daß ich dafür ein genaueres Eingehen in einer speziellen Arbeit für angezeigt hielt.

Wie groß die Wirkung des Formols auf das leimgebende Gewebe ist, sieht man schon an dem großen Einfluß, den eine Vorbehandlung mit Formol auf die Quellungsfähigkeit in Säuren hat. Wenn man Mäuseschollen 2 Tage lang in 4 % Formaldehyd enthaltende Formollösung legt, dann mehrere Tage in Wasser auswäscht, so haben sie die Quel-

¹⁾ A. Ewald, Beiträge zur Kenntnis des Collagens. Diese Zeitschrift, Bd. CV, S. 115.

lungsfähigkeit in Säuren vollkommen verloren, z. B. für Salzsäure in allen Konzentrationen von $2\text{—}\frac{1}{2000}\%$ (auf HCl berechnet). Auch die Verdaulichkeit in Pepsin ist aufgehoben.

Versuche über das Erwärmen solcher Sehnen in heißem Wasser führten nun zu sehr interessanten Ergebnissen.

Frische Mäusesehnen, die 2 Tage in verdünnter Formolösung (1 Teil Formol auf 9 Teile Wasser, also mit einem Gehalt von 4 % Formaldehyd) lagen, dann 2 Tage in Wasser ausgewaschen waren, zeigten in Wasser erwärmt bis zu einer Temperatur von 85° noch gar keine Veränderung. Erst bei 87° gehen sie langsam auf etwa die Hälfte der Länge zusammen, ebenso bei 89° , und erst bei 93° schnurren sie schnell auf $\frac{1}{3}$ der Länge, ziehen sich aber auch bei längerem Erwärmen nicht weiter zusammen und selbst in kochendem Wasser nur sehr wenig unter $\frac{1}{3}$ der ursprünglichen Länge. Dabei werden sie zwar durchsichtiger, aber nicht vollkommen glasig, sondern sie sehen immer noch etwas opaleszierend aus. Es ergibt sich also eine ganz bedeutende Erhöhung der Quellungstemperaturgrenze, man muß das Wasser bis nahe zum Sieden bringen, um maximale Verkürzung zu erreichen, aber diese ist nie so groß wie die frischer Sehnen.

Solche in heißem Wasser verkürzte Sehnen zeigen nun ein höchst eigentümliches Verhalten. Bringt man sie in kaltes Wasser, so dehnen sie sich blitzschnell wieder stark aus. Sie werden sofort noch einmal so lang als im zusammengeschnurrten Zustande, sie erreichen also sofort wieder $\frac{2}{3}$ der ursprünglichen Länge. Sie werden dabei wieder ganz opak. Diese Erscheinung beim Abkühlen tritt so schnell ein, daß sie sich, wenn man sie aus dem heißen Wasser nimmt, schon beim Abkühlen an der Luft sofort, fast wie ein zusammengedrückter elastischer Körper, wieder verlängern. Es sieht aus, als wenn sie unter leichtem Zittern sehr rasch auf die doppelte Länge ausgewachsen. Am schönsten kann man diese eigentümliche Erscheinung beobachten, wenn man ein Becherglas etwa 2 cm hoch mit Wasser füllt, das Wasser zum Kochen bringt, dann eine möglichst lange Sehne

hineinbringt, worin diese sofort auf $\frac{1}{3}$ zusammenschnurrt. Taucht man jetzt das Becherglas in kaltes Wasser, so daß gerade nur der Boden desselben vom kalten Wasser berührt wird, so streckt sich die Sehne rasch unter mehrfachen wurmartigen Krümmungen. Es sieht aus, als ob die Sehne plötzlich lebendig würde. Durch Umschütteln des Becherglases, wodurch die Sehne wieder mit dem heißen Wasser in Berührung kommt, kann man sie wieder zum Schnurren bringen und so den Versuch mehrmals wiederholen.

Wie ich eben beschrieb, dehnt sich eine solche in heißem Wasser verkürzte Sehne in kaltem sofort wieder auf etwa $\frac{2}{3}$ der Länge aus. Sie verlängert sich aber dann in langsamem Tempo weiter. So hatte sie schon nach einigen Minuten wieder $\frac{3}{4}$ der Länge erreicht und nach einigen Stunden hatte sie sich wieder vollkommen auf die ursprüngliche Länge ausgedehnt. Wie vollkommen solche Formolsehnen wieder ihre ursprüngliche Form erreichen, kann man am besten sehen, wenn man zwei vollständig gleich lange Sehnen aus dem gleichen erhärteten Sehnenbündel nimmt. (Vgl. die Präparation der Mäusesehnen in meiner oben zitierten Arbeit.) Man wird dann leicht zwei finden, die durch die Fixation in Formol auch genau in gleichen Krümmungen fixiert sind. Läßt man nun die eine in kaltem Wasser liegen, bringt die andere durch kochendes Wasser zum Schnurren und legt sie dann neben die Kontrollsehne in kaltes Wasser, so hat sie sich nach einigen Stunden nicht allein zur vollkommen gleichen Länge wieder ausgedehnt, nein, auch alle die ursprünglichen kleinen Biegungen und Knickungen haben sich so vollkommen wieder hergestellt, daß die vorher gekochte von der Kontrollsehne absolut nicht mehr zu unterscheiden ist.

Wurden zu solchen Versuchen Sehnen verwendet, die vor der Formolbehandlung erst vollkommen mit Trypsin ausgedaut waren, also nur noch aus reinem Collagen bestanden, so zeigten sie das gleiche Verhalten, wie frisch mit Formol behandelte. Auch bei ihnen war die Temperaturgrenze in gleicher Weise hinaufgerückt und auch sie kontra-

hierten sich selbst in kochendem Wasser kaum unter $\frac{1}{3}$ der ursprünglichen Länge. Auch die hierauf folgende Wiederausdehnung in kaltem Wasser erfolgt in gleicher Weise. Es ist dies also eine Eigentümlichkeit, die dem Collagen als solchem zukommt. Spezielle Versuche ergaben noch, daß andere faserige Gewebe dieses Verhalten nicht zeigten. So wenn man z. B. Muskelfaserbündel vom Froschartorius ebenso mit Formol behandelt, dann die Muskelfasern im Waschwasser isoliert, was sehr leicht geht, so schnurren solche Formolmuskelfasern bei 93° nicht zusammen, wenigstens ist die Verkürzung, die dabei eintritt, eine ganz minimale, kaum meßbare.

Sehnen vom Frosch, mit Formol behandelt, verhalten sich ebenso wie Mäusesehnen, nur ist die Temperaturgrenze nicht ganz so hoch hinaufgerückt und die Verkürzung ist ein wenig größer. Bei 85° geht eine solche Formolfroschsehne in 5 Sekunden auf das Maximum der Kontraktion von 27% der ursprünglichen Länge und selbst beim Kochen geht die Verkürzung nicht weiter. Bei 86° wird dieses Maximum schon nach 3 Sekunden, bei 82° aber erst in etwa 1 Minute erreicht. Bei 80° erleiden die Sehnen keine Veränderung. In kaltes Wasser übergeführt strecken sich die auf 27% verkürzten Sehnen sofort wieder auf 54%, verlängern sich langsam weiter und nach einigen Stunden sind sie nicht mehr von nicht in heißem Wasser geschnurrten zu unterscheiden.

Es war nun von Interesse, diese Vorgänge auch unter dem Mikroskop zu verfolgen, doch hat dies einige Schwierigkeiten wegen der schnellen Wiederausdehnung beim Abkühlen. Man bringt zu dem Ende möglichst dünne Formolmäusesehnen, am besten solche, die schon einmal in heißem Wasser geschnurrt waren und sich wieder etwas ausgedehnt hatten, in Wasser auf den Objektträger, bedeckt mit Deckglas und erwärmt über kleiner Flamme, bis das Wasser zu kochen anfängt. Dann bringt man das Präparat so schnell als möglich unter das Mikroskop. Im ersten Moment ist die Sehne ziemlich undurchsichtig und zeigt eine ganz schwache Streifung, dann kommt ein Stadium, wo die Sehne

gerade anfängt, sich zu strecken. Sie wird dabei zunächst eher etwas durchsichtiger, doch ist auch hier eine Andeutung fibrillärer Streifung zu sehen. In diesem Stadium sieht man sehr gut die Sehnenzellen. Nun streckt sich die Sehne rasch, dabei wird die Sehne undurchsichtig und dabei werden die Fibrillen wieder sehr deutlich sichtbar. Damit stimmt auch die Beobachtung in polarisiertem Lichte. Im Anfang nach dem Erhitzen keine oder doch nur sehr schwache Doppelbrechung. Sofort beim Beginn der Wiederausdehnung wird die Doppelbrechung deutlich und steigt rasch etwa zur Höhe der Doppelbrechung einer normalen Sehne an.

Eine weitere Eigentümlichkeit der Formolsehnen ist, daß, wenn sie einmal in heißem Wasser auf $\frac{1}{3}$ geschnurrt waren und sich dann in kaltem Wasser wieder auf $\frac{2}{3}$ der Länge ausgedehnt hatten, nun das Zusammenschnurren auch schon bei wesentlich niedrigerer Temperatur erfolgt. Solche Mäusesehnen schnurren nun schon bei 69° schnell wieder auf $\frac{1}{3}$ der Länge. Dies geht auch noch bei 60° , wobei die Verkürzung zwar noch schnell erfolgt, aber nicht ganz so stark ist. Bei 59° ist die Verkürzung noch geringer und bei $57-56^\circ$ erfolgt überhaupt keine Verkürzung mehr.

Bringt man durch heißes Wasser geschnurrt Mäuseformolsehnen in nicht ganz kaltes Wasser, sondern in etwas wärmeres, z. B. solches von 45° , so dehnen sie sich darin doch noch wieder aus, wenn auch langsam, und erreichen darin auch nach kurzer Zeit $\frac{2}{3}$ der ursprünglichen Länge. Bringt man sie aber in noch etwas wärmeres von 50° , so dehnen sie sich zwar auch noch aus, erreichen aber die Länge von $\frac{2}{3}$ nicht mehr. Überträgt man sie nun in ganz kaltes Wasser, so dehnen sie sich rasch weiter aus auf $\frac{2}{3}$ der Länge; bringt man sie dann gleich wieder in Wasser von 50° zurück, so ziehen sie sich wieder auf die Länge zusammen, die sie vorher im Wasser von 50° angenommen hatten.

Ebensolche Versuche an Froschformolsehnen, bei denen genaue Messungen vorgenommen wurden, ergaben: Eine Sehne verkürzt sich bei 86° auf 27% der ursprünglichen Länge; in kaltem dehnt sie sich dann sofort wieder

auf 54% aus. Jetzt erfolgt die sofortige Verkürzung auch schon bei niedrigerer Temperatur, z. B. schon bei 62°, selbst bei 56° ist nur etwa 1 Sekunde nötig, um die maximale Verkürzung auf 27% zu erreichen. Bei 54° zieht sie sich aber, nachdem sie sich in kaltem Wasser wieder ausgedehnt hatte, schon langsamer zusammen und erreicht nun nur noch 37,8%. In Wasser von 52° erreicht sie nur 43% Verkürzung. In kaltes gebracht verlängert sie sich auf 65%, dann in solches von 60° übergeführt, verkürzt sie sich nur noch auf 54%. Wird sie nun wieder in kochendes Wasser übertragen, so schnurrt sie wieder auf 27%, um sich in kaltem sofort wieder auf 54% zu verlängern. Hieraus in Wasser von 49° übergeführt, zieht sie sich auf 43% zusammen; läßt man sie dann in kochendem wieder maximal schnurren und bringt sie wieder in das Wasser von 49°, so dehnt sie sich auch wieder auf 43% aus. Wird sie dann wieder in kaltes gebracht, so verlängert sie sich auf 65%, zieht sich darauf in Wasser von 46° auf 54% zusammen. Wird sie aus kaltem Wasser in solches von 42° übergeführt, so erfolgt keine Verkürzung mehr. Diese Versuche an Froschsehnen zeigten also ebenfalls, daß, wenn Formalsehnen einmal in heißem Wasser geschnurrt waren, und sich dann in kaltem Wasser wieder ausgedehnt hatten, daß dann schon sehr viel niedrigere Temperaturen genügen, um das Zusammenschnurren wieder hervorzurufen, daß dann aber ferner, wie es scheint, jeder bestimmten Temperatur etwa zwischen den Grenzen von 40—60° eine bestimmte Länge der Sehne entspricht, die mit steigender Temperatur abnimmt. Die Froschsehnen unterscheiden sich von den Mäusesehnen nur dadurch, daß die entsprechenden Temperaturen bei ihnen etwas niedriger liegen.

Diese letzten Versuche waren alle so angestellt, daß der Aufenthalt in kaltem Wasser nur kurz war, nur so lang, bis die Sehnen die schnelle Wiederausdehnung auf $\frac{2}{3}$ der Länge wieder erreicht hatten. Es fragte sich nun, ob die Sehnen auch bei der langsam erfolgenden Nachdehnung die größere Neigung zum Zusammenschnurren behalten.

Wie wir sahen, erfolgte, wenn durch heißes Wasser geschnurrt Formolsehnen sich in kaltem gerade wieder auf $\frac{2}{3}$ der Länge ausgedehnt hatten, ein zweites Schnurren dann schon bei 60° . Lagen solche Sehnen aber dann etwas länger in kaltem Wasser, so daß die Nachdehnung schon begonnen hatte, so sind nun wieder höhere Temperaturen zu erneutem Schnurren erforderlich. Schon nach $\frac{1}{4}$ stündigem Liegen in kaltem Wasser ist eine Temperatur von 70° dazu notwendig, und je länger sie in kaltem Wasser liegen, je mehr sie sich der ursprünglichen Länge wieder nähern, um so höher steigt auch die Temperatur, die zum Wiederschnurren erforderlich ist, um so mehr nähert sich die Temperatur der ursprünglichen Grenztemperatur, doch scheinen, wie die folgenden Versuche zeigen, selbst wenn die Sehnen vollkommen das normale Aussehen wiedererlangt haben, selbst nach einigen Tagen noch geringe Unterschiede der Quellungstemperatur zu bleiben.

Von 2 Mäuseformolsehnen war die eine durch Kochen geschnurrt und hatte dann 5 Tage in kaltem Wasser gelegen und war in Form und Länge nicht von der Kontrollsehne zu unterscheiden. Bei 86° schnurrt nun diejenige, die schon vorher einmal zusammengeschnurrt war, schnell zusammen, die Kontrollsehne nicht. Von zwei ebensolchen Sehnen, bei welchen die eine nach Behandlung mit heißem Wasser 6 Tage in kaltem gelegen hatte, zog sich die schon einmal geschnurrt bei 81° im Verlauf einer Minute langsam auf $\frac{3}{4}$ der Länge zusammen, während die Kontrollsehne sich in dieser Zeit nicht veränderte. Bei 83° geht die erstere in $\frac{1}{2}$ Minute auf $\frac{1}{3}$ der Länge zusammen, während die Kontrollsehne erst bei 86° sich in $\frac{1}{2}$ Minute langsam nur ein ganz wenig, vielleicht auf $\frac{4}{5}$ der Länge verkürzte.

Die in dieser Arbeit beschriebenen Veränderungen, die das Formolcollagen in Wasser von verschiedener Temperatur erleidet, sind so prägnant und so typisch für die leimgebenden Fibrillen, indem sie bei keinem anderen Gewebe beobachtet werden, daß wir sie geradezu als neue Reaktion auf Collagen bezeichnen können.

Die leimgebenden Fibrillen erscheinen dabei je nach der Temperatur des Wassers wesentlich in drei verschiedenen Längen:

- | | |
|--|------------------------------------|
| I Normale Länge | } noch opak und
doppelbrechend, |
| II $\frac{2}{3}$ der normalen Länge | |
| III $\frac{1}{3}$ der normalen Länge, etwas gequollen, nicht doppelbrechend. | |

Die Reaktion ist nun folgende:

I geht in III sofort über in Wasser von 93° .

III geht in II sofort über beim Übertragen aus dem heißen in kaltes Wasser.

II geht in III sofort wieder über schon in Wasser von 69° .

II geht in I wieder langsam über bei längerem Liegen in kaltem Wasser.

Diese an Mäuseschnen gewonnenen Resultate gelten auch für Froschsehn, nur sind, wie oben beschrieben, dabei die Temperaturen ein wenig niedriger und die Verkürzungen etwas größer (II 54%, III 27% der normalen Länge. — Übergang von I zu III bei 86° , von II zu III bei 62°). — Auch Versuche an Vogelsehnen (Gans) ergaben gleiche Resultate.

Collagen im reticulären Bindegewebe.

Es ist immer noch ein strittiger Punkt, inwieweit und ob überhaupt collagene Fibrillen am Aufbau des reticulären Bindegewebes, z. B. in Lymphdrüsen, beteiligt sind. Kühne und ich hatten in unserer Mitteilung über die Verdauung als histologische Methode ¹⁾ angegeben, daß nach Verdauung von Lymphdrüsen Schnitten (es waren solche vom Ochsen) in Trypsin von dem reticulären Bindegewebe nur ein Netz feinsten collagener Fibrillen übrig bleibe, die alle Reaktionen der Sehnenfibrillen zeigten. Die Zellen waren vollkommen

¹⁾ A. Ewald und W. Kühne, Die Verdauung als histologische Methode. Verhandlungen des Naturhist.-Med. Vereins zu Heidelberg. Bd. I Hft 5, 1876 (C. Winter, Heidelberg).

herausverdaut. Noch vorhandene Kernreste waren durch Schütteln leicht zu entfernen. Es ist seither mehrfach bestritten worden, daß Collagen im Reticulum enthalten sei. Besonders Mall¹⁾ 2) hatte behauptet, daß das Reticulum nicht aus collagenen Fibrillen bestehe. Er hatte auch Trypsinverdauung zur Darstellung des Reticulums verwendet, aber obgleich er an anderer Stelle (S. 332) unsere Arbeit zitiert, hat er nicht erwähnt, daß wir schon und zwar zuerst die Trypsinverdauung zu einer genaueren Gewebsanalyse und auch zur Reindarstellung des Reticulums verwendet hatten. So konnte es kommen, daß noch jetzt in einem so verbreiteten Buch wie Herxheimers Technik der Pathol.-Histolog. Untersuchung³⁾ als histologische Verdauungsmethode nur die von Mall angegeben ist und die grundlegenden Arbeiten von Kühn e gar nicht erwähnt werden⁴⁾.

Es war bei dem bezweifelten Vorkommen von Collagen im Reticulum nun doch von Interesse, wie sich wohl das nach unserer Ansicht aus collagenen Fibrillen bestehende, aus Lymphdrüsen durch Trypsinverdauung erhaltene Netzwerk bezüglich der neuen Reaktion verhalten werde. Es wurden zu diesem Zwecke Lymphdrüsen vom Ochsen, mit ½%iger Kochsalzlösung angefeuchtet, mit dem Gefriermikrotom geschnitten und die Schnitte in einer frisch nach Kühn e s Vorschrift bereiteten alkalisch gemachten und mit einem Tymolkörnchen versetzten Trypsinlösung 24 Stunden verdaut. Die Zellen waren verdaut, noch vorhandene Kerne

1) F. Mall, Reticulated and Yellow Elastic Tissues (Preliminary report). Anatom. Anzeiger, Jahrg. III Nr. 14, 1. Juni 1888.

2) F. Mall, Das retikulierte Gewebe und seine Beziehungen zu den Bindegewebsfibrillen. Abhandlungen der mathematisch-physischen Klasse der Königl. Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften Bd. XVII (Bd. XXIX) Nr. IV. Leipzig, S. Hirzel, 1891.

3) Gotthold Herxheimer, Technik der Pathologisch-histologischen Untersuchung, S. 24 und 137, Wiesbaden, J. F. Bergmann, 1912.

4) Oben zitierte Arbeit von Ewald und Kühne und: W. Kühne, Kurze Anleitung zur Verwendung der Verdauung in der Gewebsanalyse. Untersuchungen aus dem physiologischen Institut der Universität Heidelberg Bd. I, Heft 2 (Carl Winter, Heidelberg).

und in den Maschen eingelagerte Tyrosinkristalle wurden durch Schütteln in Wasser leicht entfernt.

So gereinigte Reticulumpräparate wurden nun für 2 Tage in 4%iges Formol eingelegt, und zwar ein Teil der ausgedauten Schnitte vor der Einlage in Formol möglichst gut ausgebreitet, ein anderer zu dünnen schnurartigen Streifen gestreckt und so in Formol fixiert. Ein solcher Streifen, der fast wie eine feine Sehne aussieht, von 27 mm Länge schnurrt in kochendem Wasser auf 7—8 mm zusammen und verlängert sich dann in kaltem Wasser sofort wieder auf 16 mm. Nach 3 stündigem Verweilen in kaltem Wasser hatte er wieder eine Länge von 25 mm und nach 24 Stunden wieder die ursprüngliche Länge von 27 mm erreicht und dabei auch wieder vollkommen die ursprüngliche Form, wie er in Formol fixiert war, angenommen. Ein gut ausgebreitet in Formol fixierter, ausgedauter Schnitt, 10 mm lang, 8 mm breit, geht in kochendem Wasser auf ein Stückchen von etwa 4 zu 5 mm zusammen. Genau war es nicht zu messen, da es sich dabei zusammengerollt hatte. In kaltem Wasser streckt es sich dann sofort wieder aus, auf etwa 6 zu 8 mm, und nach 3 Stunden ist es wieder vollkommen ausgebreitet und hat die ursprüngliche Form und Größe, von 8 zu 10 mm, wieder erreicht. Also auch das durch Trypsin gereinigte Reticulum gibt diese neue Reaktion in gleicher Weise wie die collagenen Fibrillen der Sehnen, was doch unserer alten Auffassung, daß dieses so erhaltene feine Netzwerk aus collagenen Fibrillen bestehe, eine neue Stütze gibt.

Ähnliches Verhalten von Formolleim.

Sehr merkwürdig ist es nun, daß auch Leim, der mit Formol behandelt wurde, fast die gleiche Reaktion gibt. Man schneidet aus Gelatine schmale Streifen und legt sie entweder direkt in Formol $\frac{1}{10}$ (4%) und läßt sie darin aufweichen, oder man läßt sie erst 24 Stunden in kaltem Wasser anquellen und überträgt sie dann in Formol. Nach zweitägiger Einwirkung des Formol und mehrtägigem Auswaschen in mehrfach gewechseltem Wasser sind sie dann in

heißen Wasser nicht mehr löslich. Nach 10 Minuten langem Kochen hatte sich noch nichts gelöst, wie sich daraus ergab, daß im Wasser durch Tannin kein Niederschlag entstand. Beim Kochen verkürzt sich nun auch ein solcher Formolgelatinestreifen ganz merklich, wenn auch die Verkürzung keine solchen Werte erreicht wie beim Formolcollagen. Der Streifen wird natürlich auch in der Quere entsprechend schmaler. Er zieht sich auf 72% der Länge zusammen und wird dabei noch durchsichtiger. Der Formolleim ist ungekocht schwach opaleszierend. Nach dem Kochen in kaltes Wasser übertragen, verlängert sich der Leimstreifen schnell wieder und hat sich in 10 Minuten schon wieder fast auf die ursprüngliche Länge ausgedehnt, er hat schon wieder 96% erreicht. Nach 2 Stunden ist das Formolleimstreifchen nicht mehr von einem nicht gekochten Kontrollpräparat (beide waren durch Längsspaltung eines Streifchens erhalten) zu unterscheiden. Es ist für diese Versuche gleich, ob bei der Bereitung des Formolleims die Gelatine vor der Einlage in Formol erst in Wasser gequollen war oder ob sie direkt in die Formollösung gebracht war. Beide Präparate verhielten sich vollkommen gleich. Es ergab sich also das merkwürdige Resultat, daß auch Formolleim (Formolglutin) sich in ganz ähnlicher Weise wie Formolsehnen (Formolcollagen) in heißem Wasser kontrahiert und dann in kaltem wieder vollkommen zur ursprünglichen Form ausdehnt. —

Verhalten der Formolsehnen gegen Verdauungsfermente.

Daß Formolsehnen die Verdaulichkeit in Pepsin verloren haben, wurde schon erwähnt, es war aber noch zu untersuchen, wie sich gekochte Formolsehnen gegen die Verdauungsfermente verhielten, denn es ist ja bekannt, daß das in Trypsin an und für sich unverdauliche Collagen nach der durch heißes Wasser unter Verkürzung erzielten Quellung nun für Trypsin verdaulich geworden ist. Es wurden zu diesen Versuchen Mäusesehnen verwendet, die 3 Monate in Formol $\frac{1}{10}$ (4%) gelegen hatten, in Wasser gründlich ausge-

waschen und dann in kochendem Wasser zum Schnurren gebracht wurden. Ein Teil wurde dann in kaltes Wasser gebracht, bis er sich wieder vollständig ausgedehnt hatte, ein Teil wurde aus dem heißen Wasser so schnell als möglich in eine schon auf 40° erwärmte alkalische Trypsinlösung gebracht. Es war aber nicht zu vermeiden, daß sie sich nicht darin schon wieder etwas verlängerten. Nach $2\frac{1}{2}$ Stunden, in welcher Zeit eine gekochte frische Kontrollmäusesehne in der gleichen Trypsinlösung schon vollkommen verdaut war, war noch keine Spur von Verdauung zu bemerken, im Gegenteil, die Formolsehnern hatten sich wieder fast vollkommen auf ihre ursprüngliche Länge ausgedehnt. Auch nach 24 Stunden war noch keine Verdauung erfolgt. Die nach dem Kochen in kaltes Wasser gebrachten Formolsehnern hatten schon nach $2\frac{1}{2}$ Stunden die ursprüngliche Länge wieder erreicht. Es scheint dies nach der lange dauernden Einlage in Formol noch schneller zu gehen, wie bei den oben beschriebenen Versuchen nach kürzerer Formolwirkung. Solche Sehnen waren natürlich in Trypsin ebenfalls völlig unverdaulich. Die Sehnen, die nach dem Kochen schnell in die Trypsinlösung gebracht und damit 24 Stunden behandelt waren, kamen dann in Pepsinsalzsäure. Sie quollen darin nicht und waren nach 24 Stunden noch völlig unverändert, während zur Kontrolle in die gleiche Pepsinlösung eingelegte frische Mäusesehnen anquollen, in $\frac{1}{4}$ Stunde auf kleine Stümpfchen zusammenschrumpften und nach 3 Stunden vollkommen verdaut waren. Es wurden nun noch Sehnen der Pepsinverdauung unterworfen, die 2 Tage in alkalischer Trypsinlösung verdaut waren, also aus reinem Collagen bestanden und dann 3 Monate in Formol lagen. Sie kamen nach Auswaschen in Wasser in Pepsinlösung und waren nach 24stündiger Verdauung völlig unverändert. Wurden sie dann in Wasser gründlich ausgewaschen und in kochendes Wasser gebracht, so verhielten sie sich gerade wie gewöhnliche Formolsehnern, sie schnurrten sofort auf $\frac{1}{3}$ der Länge zusammen und dehnten sich dann in kaltem Wasser sofort wieder auf $\frac{2}{3}$ der Länge aus und hatten schon nach 1 Stunde fast die alte Länge wieder erreicht.

Nach 3 Stunden waren auch schon die feineren Biegungen wiederhergestellt und nach 24 Stunden waren sie von nicht gekochten Kontrollsehnen nicht mehr zu unterscheiden, nur ist das Gefüge der gekochten Sehnen etwas lockerer, sie gehen beim Zerklopfen unter dem Deckglas leichter in Elementarsehnen auseinander. Die Fibrillen sind aber völlig normal, auch ist ihre Doppelbrechung vollkommen erhalten. Wir sehen also, daß selbst gekochte Formolsehnen, ja selbst solche, die vor der Formolwirkung durch Trypsinverdauung gereinigt waren, durch die Pepsinverdauung, selbst durch mehrmaliges darauffolgendes Kochen, die so charakteristischen Eigentümlichkeiten der Formolsehnen gegen heißes Wasser nicht einbüßen. —

Wiederausdehnung bei Abkühlung nach dem Schnurren in heißem Wasser nach Vorbehandlung mit anderen Mitteln.

Es fragte sich nun, ob die Wiederausdehnung in kaltem Wasser nach dem Zusammenschnurren in heißem nur den Formolsehnen zukomme, oder ob nicht auch Vorbehandlung mit anderen Mitteln ähnlich wirke, und es ergab sich, daß eine Wiederverlängerung, freilich in sehr viel geringerem Grade, fast immer beobachtet wird. So zeigten sogar frische Froschsehnen ohne jede weitere Vorbehandlung, die bei 69° auf 22,5% geschnurrt waren, nach Überführung in kaltes Wasser in 5 Minuten schon eine Wiederverlängerung auf 31% und nach 18 Stunden fast auf 38% der ursprünglichen Länge. Ebensolche der Maus dehnten sich von 26% Verkürzung (bei 70° geschnurrt) in 10 Minuten wieder auf 34%, in 24 Stunden auf 36% aus. In folgender Tabelle sind die durch heißes Wasser erzielten Verkürzungen und darauffolgenden Wiederausdehnungen in kaltem Wasser in Prozenten der ursprünglichen Länge bei Mäusesehnen nach verschiedener Vorbehandlung zusammengestellt.

Aus dieser Tabelle ersieht man, daß fast nach allen Vorbehandlungen nach dem Schnurren in heißem Wasser mehr oder weniger schnell eine Wiederausdehnung in kaltem Wasser

Vorbehandlung der Mäusesehnen	Temperatur des heißen Wassers	Verkürzung darin in % der ursprünglichen Länge	Verflossene Zeit nach dem Überführen in kaltes Wasser	Wiederausdehnung in kaltem Wasser in % der ursprüngl. Länge	Sonstige Bemerkungen
Keine (frische Sehnen)	70°	26	nach 10 Min.	34	
"	70°	26	nach 24 Std.	36	
"	63°	34	nach 10 Min.	40	
"	63°	34	nach 3 Std.	50	
Trypsinverdauung	63°	9,6	nach 5 Std.	10	
Natronlauge 1/30 %	65°	22,8	nach 15 Min.	27,5	
Alkohol	65°	25	sof. wieder auf	31,6	
"	65°	25	nach 2 Min.	40	
"	65°	25	nach 24 Std.	48	
"	70°	24	sofort auf	33	
"	70°	24	nach 6 Tagen	50	
Osmiumsäure 1/2 %	85°	20	sofort auf	24	
"	85°	20	nach 4 Std.	26	
"	85°	20	nach 6 Tagen	30	
Kaliumbichromat 3 %	85°	27	nach 10 Min.	36	
(hell, hell ausgewaschen)	75°	30	nach 2 Min.	36	
Kaliumbichromat 3 %	85°	24	sofort auf	28	
(hell, dunkel gewaschen)	85°	24	nach 3 Std.	38	
"	75°	24	sofort auf	28	
"	75°	24	nach 3 Std.	40	
Kaliumbichromat 3 %	75°	25	schnell auf	28	
(dunkel, dunkel ausgewaschen)	75°	25	nach 1 Std.	38,8	
"	69°	25	ebenso	ebenso	
"	76°	23,7	schnell auf	27,5	
"	76°	23,7	nach 3 Min.	35	
Chromsäure 1/30 % (dunkel)	78°	26,4	sofort auf	32,3	Nach dem Erhitzen keine Doppelbrechung mehr, die aber in kaltem Wasser wiederkehrt.
"	78°	26,4	nach 2 Min.	38,2	
"	78°	26,4	nach 15 Min.	44,1	
"	72°	29,4	sofort auf	35,3	
"	72°	29,4	nach 12 Min.	47	
Chromsäure 1/30 % (hell)	80°	82,3	nach 1 Std.	82,3	Also keine Wiederverlängerung in kalt. Wasser.
"	87°	76,4	nach 1 Std.	76,4	

erfolgt, niemals aber wird, wie nach Formol, die ursprüngliche Länge wieder erreicht. Meist ist die Wiederausdehnung nur sehr gering. Nur nach Alkoholbehandlung ist die Wiederausdehnung ziemlich beträchtlich, doch wird auch da bei einer maximalen Verkürzung auf $\frac{1}{4}$ der Länge nur etwa die Hälfte der ursprünglichen Länge wieder erreicht. Nur in einem einzigen Falle wurde gar keine Wiederausdehnung bei der Abkühlung beobachtet. Dies war nach Vorbehandlung mit Chromsäure unter Belichtung, doch war dabei ja auch die Kontraktion in der Wärme nur sehr gering.

Engelmann¹⁾ hat schon in seiner Arbeit zur Theorie der Sehnen- und Muskelverkürzung erwähnt, daß, wenn die Schrumpfung einer Sehne durch Wärme noch nicht maximal gewesen sei, sie sich bei der Abkühlung wieder verlängere, mitunter um 10–15%, jedoch wohl niemals die vorige Länge wieder erreiche. In seiner Abhandlung über den Ursprung der Muskelkraft²⁾ hat er ähnliches in geringerem Maße an verschiedenen Geweben beobachtet. Unter seinen zahlreichen Versuchen über Kontraktion bei Wärme und Wiederausdehnung bei Abkühlung ist aber nur einer mit Sehnen (Anhang II Seite 57) angestellt. Dabei handelt es sich aber nicht wie bei meinen Versuchen um eine selbständige Wiederausdehnung der frei im Wasser liegenden Sehnen, sondern bei Engelmanns Versuch war die Sehne, ein 13 mm langes, 1,5 mm dickes Stück einer Fußsehne des Hundes, durch eine Belastung mit 50 g gedehnt, und in der Wärme geschnurte Sehnen zeigen, wie ich das noch ausführlicher besprechen werde, eine große Dehnbarkeit und haben etwa die Elastizität von Kautschuk angenommen. Engelmanns übrigen Versuche sind alle mit Violinsaiten gemacht, welche nach Engelmann auch aus parallelfasrigen, schwach spiralig um die Saitenachse verlaufenden Bündeln fibrillären Bindegewebes bestehen sollten. Dies ist aber nicht richtig, sondern Darmsaiten bestehen jedenfalls zum größten

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

²⁾ Th. W. Engelmann, Über den Ursprung der Muskelkraft, 2. Aufl. Leipzig, W. Engelmann, 1893.

Teil aus der Muscularis des Darmes. Läßt man Stücke von Violinsaiten (Quinten) in Wasser anquellen, so werden sie weich und lassen sich in 4 umeinandergedrehte Streifen zerlegen. In Wasser möglichst fein zerzupft, zeigen sie keinen fibrillären Bau, sondern lassen sich nur in gröbere Fasern zerlegen, die in Essigsäure quellen und manchmal Kerne erkennen lassen. In Wasser erweichte Saitenstücke oder durch Längsspaltung zu erhaltende Streifen davon schnurren zwar beim Kochen zusammen, aber nur auf die Hälfte der Länge, nicht wie Sehnen auf $\frac{1}{4}$. In kaltes Wasser übertragen, verlängern sie sich allmählich wieder bis auf $\frac{3}{5}$ der Länge. In Wasser erweichte Saiten, die dann 24 Stunden mit Formol (4%) behandelt waren, gehen in kochendem Wasser auch auf die Hälfte zusammen, dehnen sich aber in kaltem Wasser nicht wieder auf die ursprüngliche Länge, wie dies Formolsehnen tun, sondern selbst nach 24 Stunden auch nur wenig über $\frac{3}{5}$ der ursprünglichen Länge. Wurden in Wasser erweichte, der Länge nach in ihre 4 Teilstücke getrennte Violinsaiten mit Pepsinsalzsäure digeriert, so fingen sie schon nach 4 Stunden an zu zerfallen und waren nach 24 Stunden bis auf minimale Reste gelöst. Mit alkalischem Trypsin verdaut, sind solche Teilstücke nach 24 Stunden stark an Masse geschwunden, aber noch als Ganzes erhalten. Die unverdauten Reste sind weich, breiten sich leicht unter dem Deckglas aus und bestehen, im alkalischen Verdauungssaft untersucht, aus gequollenen Fasern, zwischen denen Reihen von Fettröpfchen liegen. (Die Violinsaiten sind immer eingeölt.) Nach 48 Stunden sind sie noch mehr zusammengegangen. Wäscht man ein solches mit Trypsin verdautes Teilstück in Wasser aus, so quillt es ab und läßt sich auf dem Objektträger in eine zarte Membran auseinanderfallen, die, mikroskopisch untersucht, nur aus collagenen Fibrillen besteht. Läßt man diesen Rest in heißem Wasser schnurren, so geht er auf ein fast nur stecknadelkopfgroßes Klümpchen zusammen, das, mit einem entsprechenden unverdauten und in heißem Wasser geschrumpften Saitenstückchen verglichen, kaum dem hundertsten Teil der Masse nach entspricht. Die Violinsaiten können demnach nicht nur aus dem Bindegewebe des Darmes

bestehen, sondern sind offenbar wesentlich Darmmuskulatur, enthalten freilich auch etwas Bindegewebe, wohl von der Submucosa, der Serosa und dem Bindegewebe zwischen den Muskelschichten stammend. Daß der in Trypsin unverdaute Rest Collagen ist, wird auch durch sein Verhalten gegen Formol bestätigt. Denn wenn man diesen zu einem dünnen Streifen ausstreckt und so in Formol fixiert, 24 Stunden darin liegen läßt, in Wasser auswäscht, so schnurrt er nun in kochendem Wasser auf $\frac{1}{3}$ der Länge zusammen, streckt sich in kaltem Wasser sofort auf $\frac{2}{3}$ der Länge und hat nach 24 Stunden wieder vollkommen die ursprüngliche Länge und Form erreicht.

Wiederverlängerung der Sehnen bei längerem Erwärmen.

Hat man Sehnen mit heißem Wasser behandelt, so daß sie darin die der angewandten Temperatur entsprechende maximale Verkürzung erreicht haben, und setzt nun die Behandlung mit heißem Wasser noch einige Zeit fort, so verlängern sie sich meistens wieder ganz wesentlich. Frische Froschsehnen dehnten sich in Wasser von 68° nach maximaler Verkürzung auf 25 % der Länge, nach 5 Minuten langem weiteren Belassen in Wasser derselben Temperatur wieder auf 58 % der Länge aus. Bei 65° aus maximaler Verkürzung von 27,7 % in 10 Minuten auf 50 %. Dabei waren sie etwas klebrig geworden und hafteten leicht an der Pinzette. In kaltes Wasser übergeführt zeigten sie dann nochmals eine weitere Verlängerung auf 55—61 % der ursprünglichen Länge. Auch bei den geringeren maximalen Verkürzungen, wie sie durch etwas niedrigere Temperaturen erzielt wurden, brachte längeres Verweilen in dem warmen Wasser wieder Verlängerung. So bei 60° von Verkürzung auf 31 % in 10 Minuten zu 45 %, welcher Verlängerung eine Weiterverlängerung in kaltem Wasser auf 54,5 % folgte. Bei den haarfeinen Mäusesehnen waren die Verhältnisse ähnlich, doch sind messende Versuche bei längerem Erwärmen nicht genau zu machen, da die Sehnen sich zwar auch stark wieder verlängern, dabei aber schnell sehr weich, sehr klebrig werden, so daß sie sich nicht mehr gut mit der

Pinzette fassen lassen. In kaltes Wasser übertragen kleben sie noch leichter und fester an Pinzette und den Gefäßwänden, so daß genaue Messungen kaum auszuführen sind. Doch hatte die Wiederverlängerung in Wasser von 68—70° von 26% in 2—5 Minuten wenigstens wieder 40% der Länge erreicht. Bei 85° waren die Sehnen schon nach 1 Minute wieder auf 40% verlängert. Bei vorher mit Trypsin verdauten Sehnen waren die Versuche noch schwerer zu machen. Bei 70° hatten sie sich zwar von der zunächst eingetretenen kolossalen maximalen Verkürzung auf 9,3% in 1½ Minuten wieder auf etwa 18% verlängert, aber sie ließen sich nicht mehr mit der Pinzette fassen und waren nach 2 Minuten schon völlig gelöst. Es geht bei dem Weitererwärmen offenbar schon in kurzer Zeit eine teilweise Umwandlung des Collagens in Glutin vor sich, die bei den dünnen Mäuseschwanzsehnen, besonders den durch Verdauung gereinigten und aufgelockerten sehr schnell und vollständig eintritt, bei den dickeren Froschfußsehnen langsamer und in den oben angegebenen Zeiten nur unvollständig erfolgt. Auch bei Fischsehnen (Barbe) war bei längerem Erwärmen (2 Minuten) bei 73° eine Wiederverlängerung zu konstatieren. In kochendem Wasser hatten sich die zusammengeschnurrten Sehnenstückchen in 2 Minuten wieder etwas verlängert. Nach 10 Minuten schienen sie nur etwas dünner geworden zu sein, waren aber nicht wesentlich weiter verändert. Nach ½stündigem Kochen sind sie dann deutlich kleiner, dünner, viel weniger durchsichtig als nach dem ersten Zusammenschnurren. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß der Rest wesentlich aus zahlreichen elastischen Fasern bestand, die in einer feinkörnigen, mit sehr vielen Kernen durchsetzten Masse lagen. Beim Zerklopfen sind zwischen den elastischen Fasern keine gequollenen Massen mehr zu sehen. Offenbar ist alles Collagen in Leim umgewandelt und gelöst und der relativ große Rest erklärt sich durch den großen Reichtum der Fischsehnen an Zellen und elastischen Fasern. Eine frische Mäusesehne ging in kochendem Wasser sofort auf 25% zusammen, hatte sich nach 1 Minute schon wieder auf 50% ausgedehnt, dann nahm sie aber an Dicke ab, war nach

5 Minuten nur noch ein dünnes Fädchen, das sich auch nach 10 Minuten nicht mehr weiter verändert hatte. Dabei war die Sehne etwa so dick wie eine frische, aber viel kürzer, und bestand mikroskopisch untersucht aus deutlich erkennbaren, in dichten Strängen gelagerten Zellen, zwischen denen deutlich gewellte elastische Fasern lagen. Von collagenen Fibrillen war nichts mehr zu sehen, auch von etwa gequollenen Resten derselben nichts mehr wahrzunehmen.

Vorbehandlung der Sehnen mit verschiedenen Mitteln wie mit 10%iger Kochsalzlösung, oder Salzsäure von $\frac{1}{1000}$ %, oder 1%iger Essigsäure, die 5% Kochsalz enthielt (Säurewirkung ohne Quellung), ebenso mit Natronlauge von $\frac{1}{50}$ % mit nachfolgendem Wiederabquellen, wirken nicht verändernd in dieser Beziehung ein. Überall war auch hier bei längerem Erwärmen eine Wiederausdehnung (von $22\frac{1}{2}$ —25% auf 43—50%) und bei nachherigem Übertragen in kaltes Wasser auch noch eine weitere Verlängerung zu konstatieren. Chromsaure Salze aber heben diese Eigentümlichkeit der Sehnen vollständig auf. Nach Behandlung mit Kaliumbichromat von 3% zeigen die Sehnen, und zwar sowohl hell- als wie dunkelgehaltene, bei längerem Erwärmen keine Verlängerung, dagegen haben sie die Fähigkeit, sich dann in kaltem Wasser wieder auszudehnen, behalten. An mit Chromsäure behandelten Sehnen waren keine speziellen Versuche in dieser Richtung angestellt worden, doch scheint aus Versuchen, bei denen die Erwärmung zufällig etwas länger fortgesetzt wurde, hervorzugehen, daß auch nach Chromsäurebehandlung, wenigstens bei hellgehaltenen Sehnen, keine Wiederausdehnung erfolgt.

Bei der Verlängerung bei längerem Erwärmen handelt es sich offenbar nicht um den gleichen Vorgang wie bei der Verlängerung durch Überführen in kaltes Wasser nach Heißwasserverkürzung. Es handelt sich sicher dabei um eine allmähliche Umwandlung des Collagens in Leim, die nur bei dem Chromcollagen aufgehoben oder verzögert ist.

Formolsehnen verhalten sich auch in dieser Beziehung wieder abweichend. Sie verlängern sich nicht wieder bei längerem Erwärmen, sondern sie ziehen sich im Gegenteil

noch weiter zusammen. Eine Formolsehne von 57 mm Länge ging in kochendem Wasser direkt auf 19 mm zusammen. Sie war nach 5 Minuten langem Kochen auf 17, nach 8 Minuten auf 15, nach 13 Minuten auf 14, nach 18 Minuten auf 13 und nach 23 Minuten auf 12 mm verkürzt. Eine weitere Verkürzung war auch nach $\frac{1}{2}$ Stunde nicht eingetreten. In kaltes Wasser übergeführt, streckt sie sich zunächst wieder auf 15 mm, hat nach 2 Minuten 17, nach 17 Minuten 17,5 und nach $\frac{1}{2}$ Stunde 18 mm erreicht. Sie dehnt sich aber nun nicht mehr weiter aus und hat sich selbst nach 24 Stunden nicht weiter verlängert, hat also noch nicht einmal wieder ganz $\frac{1}{3}$ der ursprünglichen Länge erreicht. Also auch hier nimmt wieder das Formolcollagen eine Ausnahmestellung ein. Ein altes Präparat von Lymphdrüsenreticulum, durch Trypsinverdauung aus Lymphdrüsen vom Ochsen erhalten, das wenigstens 5 Jahre in Formol aufgehoben war, geht in kochendem Wasser auf etwas mehr als $\frac{1}{3}$ zusammen, bei weiterem Kochen noch etwas weiter und erreicht nicht ganz $\frac{1}{4}$ des ursprünglichen Durchmessers, zieht sich aber dann auch bei längerem, $\frac{1}{2}$ stündigem Kochen nicht mehr weiter zusammen. In kaltes Wasser gebracht, dehnt es sich auch nicht mehr wesentlich aus und hat sich auch nach 24 Stunden nicht wieder weiter gestreckt. Also auch in dieser Beziehung verhält sich das Reticulum wie sonstiges Collagen.

Dehnbarkeit der in heißem Wasser geschrumpften und gequollenen Sehnen.

Bekanntlich kann man dadurch, daß man durch Gespannthalten die Sehnen mechanisch verhindert, sich in heißem Wasser zu verkürzen, auch die sonst damit verbundene Quellung verhindern. Die Sehne behält dabei ihre starke Lichtbrechung und Doppelbrechung. Damit hängt wohl auch folgende Erscheinung zusammen: Ist eine Sehne in heißem Wasser zusammengeschnurrt und glasig gequollen, so hat sie nun eine ganz andere Elastizität bekommen. Während frische Sehnen fast gar nicht dehnbar sind, ein zwischen 2 Pinzetten

gefaßtes 10 mm langes Stück einer Froschsehne sich z. B. höchstens um $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ mm dehnen läßt, haben die geschnurrten Sehnen eine Dehnbarkeit etwa wie Kautschuk gewonnen. Sie lassen sich sehr stark dehnen, um nach Nachlassen des Zuges sofort wieder zu der durch die Erwärmung vorher erzielten Verkürzung zurückzuschleunigen. Um diese Versuche auszuführen, packt man am besten ein Stück einer Sehne von bestimmter Länge fest zwischen 2 Pinzetten und versenkt diese dann mit der Sehne, ohne einen Zug auszuüben, in heißes Wasser, mißt dann die Verkürzung durch das Schnurren, ohne die Sehne loszulassen, und kann dann direkt durch starken Zug mit den Pinzetten die Sehne wieder dehnen. Es zeigt sich dann, daß man eine Froschsehne, die in Wasser von 70° auf etwa 30 % der ursprünglichen Länge verkürzt war, direkt hinterher wieder auf die ursprüngliche Länge dehnen kann, ohne sie zu zerreißen. Dabei werden die Sehnen wieder fast vollkommen opak, um dann beim Zurückschnellen wieder das glasig gequollene Aussehen der geschnurrten Sehnen anzunehmen. Froschsehnen, die bei 70° geschnurrt, sich dann in kaltem Wasser wieder etwas verlängert hatten, ließen sich nun nicht bis zur völligen ursprünglichen Länge dehnen, sondern nur etwa bis zu 75 % derselben. Dabei wurden sie etwas opak, rissen aber bei stärkerer Dehnung an den Pinzetten ab und schnurrten wieder zusammen. Wurden die Sehnen aber nach dem Schnurren noch einige Zeit in heißem Wasser gehalten, bis sie sich darin wieder etwas verlängert hatten, dann in kaltes Wasser übertragen und auch hierin gelassen, bis die oben beschriebene weitere Verlängerung eingetreten war, so sind sie nun noch dehnbarer geworden, denn in einigen derartigen Versuchen konnte eine solche Sehne nun weit über die ursprüngliche Länge, die sie vor dem Schnurren hatte, gedehnt werden, über 150 % der ursprünglichen Länge. Mäusesehnen verhalten sich ähnlich, doch sind dabei die Versuche schwerer anzustellen, da die haarfeinen Mäuseschwanzsehnen sehr schwer fest mit Pinzetten zu packen sind und beim Dehnen leicht an der Pinzette abreißen, auch bei etwas zu langem Erwärmen schon sehr schnell, wenigstens teil-

weise, in Leim umgewandelt sind. Bei in Alkohol gehärteten Mäuse- und Rattensehnen ließ sich aber konstatieren, daß sie sich auch nach dem Schnurren wieder fast bis zur ursprünglichen Länge dehnen lassen und dabei auch wieder opak wie frische Sehnen werden. Nicht ohne Interesse war ein Versuch mit Alkoholmäusesehnen, bei dem die Verkürzung langsamer bei etwas niedrigerer Temperatur vorgenommen wurde. Eine solche Sehne hatte sich bei 60° nach 6 Minuten langer Erwärmung auf 60 % verkürzt. Sie ließ sich dann durch Zug nur wieder auf 86 % ausdehnen, um nach Nachlassen des Zuges wieder auf 60 % zurückzuzschnurren. Nach 10 Minuten weiterer Erwärmung bei 60° hatte sich die Sehne allmählich auf 32 % verkürzt, in kaltem Wasser dann wieder auf 52 % verlängert. Nun war die Sehne sehr viel dehnbarer geworden, denn sie ließ sich ein ganzes Stück über die ursprüngliche Länge dehnen und riß erst, als etwa 120 % der ursprünglichen Länge erreicht waren. Auch mit Osmiumsäure behandelte Sehnen zeigten nach dem Schnurren in heißem Wasser diese kautschukartige Dehnbarkeit und ließen sich bis zur alten Länge dehnen; erst dann rissen sie und schnellten wieder zusammen. Ebenso verhielten sich auch Formolsehnen. Eine solche vom Rattenschwanz von 57 mm Länge, die sich in kochendem Wasser auf 19 mm verkürzt hatte, ließ sich leicht wieder auf die alte Länge ausdehnen. Eine ebensolche auch 57 mm lange Sehne, die, wie im vorigen Abschnitt beschrieben, nach $\frac{1}{2}$ stündigem Erwärmen sich auf 12 mm verkürzt und dann nach 24 stündigem Verweilen in kaltem Wasser sich wieder auf 18 mm verlängert hatte, ließ sich nun nur noch auf 44 mm dehnen.

Die Gesamtergebnisse der vorstehenden Arbeit seien nochmals kurz zusammengefaßt: Das Verhalten des Formolcollagens gegen heißes Wasser ist so eigentümlich, daß es geradezu als neue Reaktion des Collagens betrachtet werden kann, denn Formolsehnen schnurren in Wasser erst bei 93° rasch auf $\frac{1}{3}$ der Länge zusammen und dehnen sich dann in kaltem Wasser sofort, wie

eine zusammengedrückte Spiralfeder, wieder auf $\frac{2}{3}$ der normalen Länge aus. Jetzt schnurren sie schon bei 69° wieder auf $\frac{1}{3}$ der Länge zusammen. Bei längerem Liegen in kaltem Wasser erreichen sie dann wieder **vollkommen** die ursprüngliche Länge und Form. Durch Trypsinverdauung gereinigtes, dann mit Formol behandeltes Lymphdrüsenreticulum verhält sich ebenso; ein Beweis, daß auch im Reticulum collagenae Fibrillen enthalten sind. Auch Formol-leim zeigt ein ähnliches Verhalten.

In geringem Grade zeigen auch frische Sehnen und solche nach anderer Vorbehandlung eine Wiederverlängerung in kaltem Wasser, nach der Verkürzung in heißem, aber diese Verlängerung ist nur nach Alkoholbehandlung etwas beträchtlicher, sonst nur sehr gering. Eine gewisse Wiederverlängerung nach der Verkürzung in heißem Wasser erfolgt auch bei etwas längerem Erwärmen. Endlich zeigte sich, daß die in heißem Wasser geschrumpften und gequollenen Sehnen eine ganz andere Elastizität bekommen hatten als frische; sie sind nun dehnbar wie Kautschuk geworden.

