

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität
T ü b i n g e n

Die Ergebnisse
der experimentellen Arbeiten
von AUGUST KROGH

Bekannt: Professor Dr. H. H. R e h e l
Berichterstatter: Professor Dr. F. H e i f e r

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe
einer hohen medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen



vorgelegt von

M a r g a r e t e N i e l s e n
aus Graasten / Dänemark

1949

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität

Tübingen

Die Ergebnisse

der experimentellen Arbeiten

von AUGUST KROGH

Dekan: Professor Dr. H.H. Rehel

Berichterstatter: Professor Dr. F. Haefner

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe
einer hohen medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen



vorgelegt von

Mertzele Nielsen
aus Gæsteb / Dänemark

1949

E i n l e i t u n g

Diese Arbeit befasst sich mit den Ergebnissen der experimentellen Arbeiten von August K r o g h, unter besonderer Berücksichtigung seiner letzten wissenschaftlichen Arbeiten der Kriegs- und Nachkriegsjahre, die auf Grund der bestehenden Verhältnisse bisher in Deutschland noch nicht allgemein zugänglich waren.

Ein Überblick über seine Arbeiten und seinen Forschungsweg lassen erkennen, dass K r o g h nach umfangreichem Studium der Naturwissenschaft, Physiologie und Anatomie in eigener Forschung auf dem Gebiet der Atmungsphysiologie eine Präzisionstechnik entwickelte, mit Hilfe derer seine Untersuchungen über Kapillarphysiologie und -anatomie durchführbar wurden, die das Hauptwerk der 20er Jahre darstellen und deshalb in dieser Arbeit eine nähere Berücksichtigung finden sollen. Seine ersten Arbeiten über die Kapillaren erschienen 1924 in deutscher Übersetzung. Erweiterte Forschungen auf diesem Gebiet wurden 1929 veröffentlicht, jedoch nur in englischer Sprache. Daneben ist es in diesen Jahren die Insulinforschung, der sein Interesse gilt. Es soll hier nur kurz eingegangen werden auf die Bedeutung K r o g h s für die Verbreitung des Insulins in den nordischen Ländern und auf seine Bemühungen um eine verbesserte Insulinherstellung.

In den 30er Jahren kam Krogh durch eingehende Forschung über die Osmoregulation der Meerestiere zu interessanten Erkenntnissen über die Ernährungsverhältnisse und den Stoffaustausch der Lebewesen des Meeres. Dies soll im Vorliegenden unter Heranziehung einer Veröffentlichung "On a new bottom-sampler for investigation of the micro-fauna of the sea-bottom, (With remarks on the quantity and significance of the benthonic micro-fauna)" Erwähnung finden. Daneben veröffentlichte K r o g h in dieser Zeit eine Untersuchung über "Investigations on the exchange of phosphorus in teeth, using radioactive phosphorus as indicator", die kurz angeführt wird.

Während der Kriegsjahre widmete sich K r o g h von neuem der vergleichenden Atmungsphysiologie, einer Arbeit, die unter dem Titel "The comparative physiology of respiratory mechanisms" 1941 veröffentlicht wurde und hier näher besprochen werden soll. Seine letzte grössere Veröffentlichung "The active and passive exchange of ions", die dadurch verzögert wurde, dass K r o g h 1944 Dänemark auf Grund der deutschen Besatzung verlassen musste und darum erst 1946 erschien, wird hier eingehend behandelt.

Nicht zuletzt bemüht sich die vorliegende Arbeit, die Bedeutung K r o g h s für die moderne naturwissenschaftliche Forschung darzustellen, die er auf Grund hervorragender geistiger Fähigkeiten, wie auch durch seine soziale Einstellung in bahnbrechender Weise fördert.

Inhaltsübersicht

I.	Lebenslauf	s. 5
II.	Studien über die Anatomie und Physiologie der Kapillaren	s. 9
	1. Einleitung.	s. 9
	2. Die unabhängige Kontraktilität der Kapillaren.	s. 12
	3. Der Bau der Kapillarwand.	s. 13
	4. Die Innervation der Kapillaren.	s. 15
	5. Reizreaktion der Kapillaren	s. 18
	6. Kapillarreaktion auf narkotische Mittel	s. 20
	7. Die Bedeutung der Wasserstoffionen auf die Kapillartätigkeit	s. 20
	8. Adrenalin	s. 22
	9. Die hormonale Beeinflussung des Kapillarkreislaufes	s. 23
	10. Stoffaustausch durch die Kapillarwand	s. 30
	11. Kapillarer Blutdruck und Venendruck	s. 31
	12. Erklärung einiger Phänomene mit Hilfe der Ergebnisse experimenteller Arbeiten (<u>Nierenglomeruli</u>)	s. 34
	13. Beschreibung einiger Apparate und angewandten Untersuchungsmethoden	s. 38
III.	Studien über Insulin	s. 40
	1. Eine Entdeckung und ihre Bedeutung.	s. 40
	2. Insulinversuche an Kaninchen und Mäusen	s. 41
	3. Insulinherstellung	s. 47
IV.	Studien über einen neuen Sammelapparat zur Untersuchung der Mikrofauna des Meeresbodens	s. 49
V.	Studien über den Phosphorstoffwechsel in den Zähnen	s. 52
VI.	Studien über die vergleichende Physiologie der Atmungsmechanismen	s. 53
	1. Einleitung	s. 53
	2. The Call For Oxygen	s. 54
	3. Der Zugang zum Sauerstoff	s. 55
	4. Der Transport von Sauerstoff und CO ₂ durch lebende Gewebe	s. 56
	5. Atmung im Wasser	s. 57
	6. Notatmung als Übergang zur Luftatmung	s. 58
	7. Luftatmung	s. 58

8. Die Atemfunktion des Blutes	s. 62
9. Trachealatmung	s. 63
VII. Studien über den aktiven und passiven Austausch anorganischer Ionen durch die Oberfläche lebender Zellen und durch lebende Membranen	s. 66
1. Einleitung	s. 66
2. Membranen, die nur passive Diffusion gestatten	s. 67
3. Die osmotische Regulation bei Wassertieren	s. 69
4. Ionenaustausch zwischen Zellen und ihrer Umgebung	s. 74
a. Ionenaustausch bei Pflanzenzellen	s. 75
b. Ionenaustausch zwischen tierischen Zellen und ihrer Umgebung	s. 81
VIII. Nachwort	s. 92
IX. Literaturverzeichnis	s. 93

I. Lebenslauf.

Schack August Steenberg Krogh wurde am 15.11.1874 in Grenaa in Dänemark als Sohn des Brauers und Redakteurs Andreas Viggo Detlef Krogh geboren. Krogh zeigte schon als Knabe naturwissenschaftliches Interesse. In Grenaa besuchte er die Realschule und später die Kathedralschule in Aarhus, wo er 1893 die Reifeprüfung ablegte. Krogh unterbrach seine Schulzeit für 3/4 Jahre, während welcher Zeit er sich auf einem Schiff anheuern liess. Ursprünglich wollte Krogh nach der Matura Mathematik studieren, entschloss sich aber nach Absolvierung des medizinischen Vorbereitungsexamens zum Studium der Naturgeschichte mit Zoologie als Hauptfach. Ein Freund seines Vaters, der dänische Zoologe William Sörensen, hatte während dieser Zeit einen grossen Einfluss auf Krogh. Auf sein Anraten bildete Krogh sich weiter in Physiologie und Anatomie aus, wodurch er mit Christian Bohr zusammentraf. In der Folgezeit beschäftigte sich Krogh eingehender mit der Physiologie und begann 1896 mit einer Reihe experimenteller Arbeiten über die "Trachealblase der Corethralarve". 1897 nahm Krogh die Arbeit in Bohrs Laboratorium auf. 1899 machte Krogh seinen "Mag.scient." in Naturgeschichte. Unmittelbar danach wurde er als Assistent im Physiologischen Institut angestellt. Diese Stellung behielt Krogh bei, bis er 1908 Dozent der Tierphysiologie an der naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität in Kopenhagen wurde, und 1916 ordentlicher Professor im selben Fach. Seine Dissertation über die Haut- und Lungenatmung der Frösche entstand während der Zeit im Bohr'schen Laboratorium; sie wurde 1903 beendet und zur öffentlichen Diskussion gestellt. Danach wurde Krogh durch den von der Wiener Akademie ausgesetzten Seegenpreis zu einer Arbeit über "die Ausscheidung von freiem Stickstoff im Organismus" veranlasst. Für diese Abhandlung wurde ihm 1906 der Seegenpreis erteilt. (Die Abhandlung wurde im Sitzber. Kais. Akad. Wissensch., CXV, 1906 veröffentlicht.) In dieser Arbeit zeigte er erstmalig seine hochentwickelte Präzisionstechnik, die sich später besonders in zahlreichen Untersuchungen über die Atmungsphysiologie zeigte, wie z.B. in "Über die Prinzipien der exakten Respirationsversuche" (Biochemische Zeitschrift, VII, 1908), "Ein Mikrorespi-

rationsapparat" (sst. LXII, 1914), "The quantitative relation between temperature and standard metabolism in animals" (Internat. Zeitschr. für physikal. chem. Biologie, I, 1914) und noch viele andere. Diese Arbeiten wurden 1916 von ihm in der Monographie "The respiratory exchange of animals and man" zusammengefasst. Durch seine Forschung auf dem Gebiet der Respiration fand K r o g h die Anregung zu seinen allgemein bekannt gewordenen Arbeiten über die Kapillaren, die er erstmalig in "Videnskabernes Selskabs Biologiske Meddelelser", I, 1918 veröffentlichte und für die er 1920 den Nobelpreis in Medizin und Physiologie bekam. 1922 hielt K r o g h an der Yale University in USA eine Vorlesungsreihe, in der er sich noch eingehender mit diesem Gebiet befasste; eine Veröffentlichung dieser Vorlesungen erfolgte im gleichen Jahr unter dem Titel "Anatomy and physiology of capillaries", das 1924 auch ins Deutsche übersetzt wurde und 1929 von ihm in verbesserter und vergrößerter Auflage herausgegeben wurde.

Während seines Aufenthaltes in Amerika 1922 beschäftigte sich K r o g h ausserdem mit der damals gerade entdeckten Darstellung des Insulins und, nach Dänemark zurückgekehrt, veranlasste er die Errichtung des "Nordischen Insulinlaboratoriums", wo er selbst an einer Verbesserung der Insulinherstellung zu arbeiten begann. Er berichtet darüber in "Insulin, en Opdagelse og dens Betydning" (Insulin, eine Entdeckung und ihre Bedeutung), erschienen im Kopenhagener Univ. Progr. 1924. Als Anerkennung für diese Arbeiten K r o g h s machte die Rockefeller Foundation 1923 der Kopenhagener Universität das Angebot zur Errichtung eines neuen Insulinlaboratoriums, das in der Folge internationalen Ruf erhielt.

In den dreissiger Jahren galt K r o g h s Interesse hauptsächlich Forschungen über Ernährungsverhältnisse und Stoffaustausch des Meeres. Unter anderem schrieb er mehrere Arbeiten über die Püttersche Ernährungstheorie. Über die Osmoregulation der Meerestiere stellte K r o g h Versuche an, die er 1939 unter dem Titel "Osmotic regulation in aquatic animals" in Cambridge veröffentlichte. Als Vorbereitung für diese Untersuchungen unternahm Krogh 1933 eine Fahrt mit dem amerikanischen Untersuchungsschiff Atlantic.

Sein Hauptinteresse wandte K r o g h im letzten Jahrzehnt wieder der vergleichenden Physiologie der Respirationsmechanismen zu. Zu diesem Thema veröffentlichte K r o g h 1941 "The comparative physiology of respiratory mechanisms" und 1946 erschien seine bisher letzte grössere Veröffentlichung "The passive and active exchange of ions"; ersteres erschien in der University of Pennsylvania Press Philadelphia, 1941, letzteres in der "Croonian Lecture".

Ausser diesen bisher geschilderten hauptsächlichsten Forschungen hat K r o g h noch auf einer Reihe anderer Gebiete gearbeitet. So z.B. unternahm er 1902 und 1908 Untersuchungsreisen nach Grönland, deren Resultate ausführliche Arbeiten über die Kohlensäurespannungen des Meeres waren, ("The tension of carbonic acid in natural waters and especially in the sea", Medd.om Grönland, XXVL, 1904).

K r o g h s Bedeutung für die moderne experimentelle Zoologie und Physiologie liegt nicht allein in den bisher genannten Arbeiten, sondern ist auch zu einem grossen Teil auf seine hervorragende Fähigkeit zurückzuführen, die zur Lösung physiologischer Probleme notwendigen Apparate zu konstruieren. In seinem Laboratorium entstanden Spirometer und Mikrorespirationsapparate, die in der ganzen Welt Anwendung fanden. Dass es K r o g h immer wieder gelang, schwierige experimentelle Aufgaben zu lösen, schreibt er seiner Fähigkeit zu, eine Apparatur bis zu ihrer kleinsten Einzelheit im Kopfe zu haben, ohne auf Zeichnungen oder niedergeschriebene Pläne angewiesen zu sein. Auf Grund dieser Fähigkeit wurde K r o g h vor kurzem von der englischen Regierung aufgefordert, das Problem der Bekämpfung der tropischen Heuschrecken zu lösen. Da die Heuschreckenschwärme vom Flugzeug aus in der kurzen Zeit bekämpft werden müssen, während der sich der Schwarm nicht vom Boden erheben kann, handelt es sich darum, diesen von Temperatur und Luftfeuchtigkeit abhängigen Zeitpunkt zu berechnen. Zu diesem Zwecke hat nun K r o g h ein Heuschreckenkarussell konstruiert, das eine Beobachtung über das Verhalten der Heuschrecken unter verschiedenen klimatischen Bedingungen gestattet.

Im K r o g h 'sehen Laboratorium arbeiteten Schüler aus dem In- und Auslande. In Dänemark hatte K r o g h auch auf den Schulunterricht einen Einfluss. Es ist auf ihn zurückzuführen, dass innerhalb des Biologieunterrichtes auch

Physiologie gelehrt wurde. Zu diesem Zweck verfasste Krogh das Lehrbuch "Die Physiologie des Menschen", das in allen höheren Schulen Dänemarks zur Anwendung kam. Seine Tätigkeit fand vielfach grosse Anerkennung. So wurde er 1916 Mitglied von "Videnskabernes Selskab" (Gesellschaft der Wissenschaften in Kopenhagen) und 1922 Ehrendoktor an der Universität Lund und im weiteren Verlauf noch an verschiedenen anderen Universitäten.

Anfang 1949 machte K r o g h viel von sich reden, indem er demonstrativ aus der Gesellschaft der Wissenschaften austrat, da er der Ansicht war, dass die Gesellschaft ihre Mitgliederzahl bedeutend vergrössern sollte, um damit vor allem ihren Verpflichtungen zur kollektivem Mitarbeit an einer Verbesserung der Forschungsmöglichkeiten in Dänemark nachzukommen. Zur Illustration seiner sozialen Einstellung soll hier ein Teil eines offenen Briefes wiedergegeben werden, in dem K r o g h seinen Austritt aus der Gesellschaft begründet: "Die Gesellschaft der Wissenschaften muss aus dem Schatten der Vornehmheit heraustreten und in voller Öffentlichkeit ihre Einsicht und ihre Arbeitsfähigkeit in den Dienst der Gemeinschaft stellen. Ich möchte es hiermit klar aussprechen, dass ich keine Mitverantwortung dafür tragen kann, dass sich die Gesellschaft weiterhin ihren natürlichen Verpflichtungen entzieht."

K r o g h ist nicht nur in Dänemark, sondern für die ganze Welt ein Pionier für moderne experimentelle Zoologie und Physiologie. K r o g h war es, der die vergleichenden und quantitativen Gesichtspunkte in die experimentelle Tierphysiologie einführte, wozu ihn sein eingehendes Studium sowohl der Zoologie als auch der medizinischen Physiologie geführt hat. Durch seine umfangreiche allgemein naturwissenschaftliche Ausbildung konnte er dem Gebiet der medizinischen Physiologie weitere Gesichtspunkte zuführen.

II. Studien über:

Die Anatomie und Physiologie der Kapillaren

(The anatomy and physiology of capillaries")

Silliman memorial lectures, Yale university 1922

In deutscher Übersetzung von U. Ebbecke, Springer 1924

Verbesserte und vergrösserte englische Ausgabe,

Press New Haven, 1929.)

200 Jahre sind seit der Entdeckung der Kapillaren vergangen. In den letzten 7 Jahren vor der Veröffentlichung dieser Arbeit häuften sich Einzelerkenntnisse über Kapillartätigkeit, sodass man von einer Wiederentdeckung der Kapillaren sprach. **K r o g h s** Verdienst ist es, alle die bis dahin vorliegenden Einzelerkenntnisse über die Kapillartätigkeit bewiesen zu haben und durch Hinzufügung eigener bahnbrechender Experimente die Kapillarphysiologie und -anatomie in ihrer Bedeutung für den Organismus erschlossen zu haben.

Folgende Fragestellungen sind der Ausgangspunkt zu seinen Kapillarforschungen: "Wie geschieht die Sauerstoffzufuhr zu den Fasern des quergestreiften Muskels, wie ist der Mechanismus, der sie gewährleistet und die besondere Art und Weise der Regulierung? In welcher Beziehung steht die Leichtigkeit des Sauerstofftransportes zur Zahl und Verteilung der Kapillaren? Durchlässigkeit der Kapillärwände und Gewebe für Sauerstoff selbst? Welche Kräfte und Mechanismen besorgen die Leistung der Kapillaren, nämlich Stoffaustausch zwischen Blut und Gewebe oder Gewebsflüssigkeit und wie reguliert der Organismus diese Leistung, passt sie seinen immer wechselnden Bedürfnissen an und stellt zwischen seinen vielseitigen Fähigkeiten eine geregelte Beziehung her?"

K r o g h begibt die Lösung dieser Probleme mit der quantitativen Beobachtung der Kapillerverteilung im quergestreiften Muskel, wobei er nach zahlreichen Vergleichsuntersuchungen zu dem Resultat kam, dass eine Beziehung zwischen der Stoffwechsellätigkeit und der Zahl der Kapillaren im qmm Muskel bestehen muss. Z.B. haben Säugetiere einen lebhafteren Stoffwechsel als Kaltblüter, Wirbeltiere und kleine Säugetiere mehr als grössere. So ergaben sich beim Hund

2630[±] 51 Kapillaren im qmm des M.semimembranosus, beim Pferd 1350[±] 31 im qmm M.quadrocnemius, beim Frosch 400 im qmm. Für Sauerstoff heisst das, dass die längste Strecke, die ein Sauerstoffmolekül zurückzulegen hat, die halbe Entfernung zwischen benachbarten Kapillaren ist. Beim Froschmuskel wäre $R = 28\mu$, beim Hund $R=11\mu$. Im folgenden hat K r o g h interessante Zahlenbeispiele für die Kapillaroberfläche und -länge errechnet. So ergibt sich bei einem angenommenen Muskelgewicht von 50 kg und der beobachteten Kapillarzahl 2000 im qmm eine Gesamtlänge der Kapillaren von 100000 km oder 21/2 mal rund um die Erde und eine Gesamtoberfläche von 6300 qm.

Über das Kapillarsystem in den Darmzotten gibt K r o g h aufschlussreiche Angaben, die die ersten auf diesem Gebiet gemachten Versuche von Mall (1887) korrigieren und erweitern. Danach kommt auf eine Zottenoberfläche von 0,84 qmm (Kaninchendarm) eine Gesamtkapillarlänge von 2,47 mm. Der mittlere Durchmesser einer Kapillare ist 12μ , was eine Gesamtoberfläche von 0,93 qmm oder 10,9% der Epitheloberfläche ergibt. Die Projektion der Kapillaren auf die Epitheloberfläche beträgt 0,295 qmm oder 34%, was bedeutet, dass ungefähr ein Drittel der Epithelzellen die durch sie hindurchgewanderten Stoffe unmittelbar an die Kapillaren abgeben, während zwei Drittel sie zunächst den Interkapillarräumen überliefern.

Interessante Ergebnisse zeitigten Untersuchungen über die Kapillaroberfläche in den Glomeruli, die K r o g h in seinem Laboratorium durchführen liess. Zählungen ergaben unter andern 900000 Glomeruli in einer Niere beim Kind und 1.233.360 Glomeruli in einer 165 gr schweren Niere eines Erwachsenen. Ein Glomerulus ist rund, mit einem Diameter von 200μ . Das Volumen ergibt 0,0042 cbmm. Der Glomerulus besteht aus einer unterschiedlichen Anzahl von Kapillarschlingen, die nicht anastomosieren, aber stark gewunden sind (im Durchschnitt 50 Schlingen von afferenter zu efferenter Arterie) und eine Länge von schätzungsweise dem fufffachen des Diameter oder 0,5 mm. Das ergibt eine Gesamtkapillarlänge von 25 mm im Glomerulus oder für die ganze Niere mit einer Million Glomeruli 25 km. Die Oberfläche jedes Glomerulus beträgt 0,78 qmm oder für beide Nieren beim Menschen ca 1,5 qm, bei einem Kapillarvolumen von 4 cc.

Eingehende Untersuchungen über das Rete mirabile in der Sauerstoffdrüse des Aales hat K r o g h in diesem Zusammenhang erstmalig veröffentlicht. Er beschreibt Bau und Funktion des Rete mirabile folgendermassen: "Die zuführende Arterie verteilt sich an einem Punkt in viele Zweige, die sich weiterhin in eine enorme Zahl paralleler Kapillaren verästeln. Diese Kapillaren verlaufen eine Strecke lang als gerade Röhren, vereinigen sich plötzlich wieder und bilden eine Arterie, die zur Sauerstoffdrüse geht. Dort versorgt sie ein gewöhnliches Netzwerk von Arteriolen, Kapillaren, Venchen und Venen, die sich schliesslich in einer oder einigen Venen vereinigen, die zum distalen Ende des Arteriennetzes zurücklaufen. Auch diese Vene zerteilt sich, ganz wie die Arterie, in gerade parallele Kapillaren, die mit erstaunlicher Regelmässigkeit zwischen den arteriellen Kapillaren eingeordnet sind und schliesslich am proximalen Ende das Rete zu einer einzigen Vene zusammenlaufen." - K r o g h injizierte das Rete mit verschiedenen gefärbten Gelatineflüssigkeiten und erhielt Präparate, die aufschlussreiche mikroskopische Schnitte ergaben. Jede venöse Kapillare zeigte sich regelmässig umgeben von mehreren arteriellen Kapillaren, die etwas enger sind. Es bestanden zwei parallele Netze, jedes im Querschnitt 8 qmm. Die Gesamtlänge eines Rete betrug 7 mm., das Gesamtvolumen beider Kapillarsysteme 64 cmm. Pro qmm Querschnitt ergaben sich 5500 venöse und 7250 arterielle Kapillaren, für beide Organe im Ganzen macht das 88000 venöse und 116000 arterielle Kapillaren, mit einer Länge von 352 und 464 m. Ein Bezirk von 0,00386 qmm enthielt 21 venöse Kapillaren, die eine Fläche von 0,00149 qmm oder 38,6% des ganzen Bezirks einnahmen, und 34 arterielle mit 0,00108 qmm oder 28,1%. Für Zwischengewebe 33,3%. Die mittlere Querschnittsfläche einer venösen bzw. arteriellen Kapillare betrug 71 und $39 \mu^2$, der Durchmesser 9,5 bzw. $7,1 \mu$ und der Umfang 30 bzw. $22,5 \mu$. Dies ergibt, dass die venösen und arteriellen Kapillaroberflächen in diesen Organen gleich sind, nämlich 106 bzw. 105 qcm, während das Gesamtvolumen der venösen Kapillaren etwa 25 und der arteriellen Kapillaren 18 cmm beträgt.

2. Die unabhängige Kontraktilität der Kapillaren.

Die Idee K r o g h s, "dass die Kapillaren selbst kontraktile sein könnten, damit im ruhenden Organ nur eine beschränkte Anzahl von Kapillaren, in passenden regelmässigen Abständen verteilt, zum Zutritt des Blutes und zur Herstellung der für den Stoffaustausch nötigen Oberfläche offengehalten würden", waren Ausgangspunkt und Leitmotiv für die experimentellen Untersuchungen über die Kapillarkontraktilität.

Im ersten Jahrzehnt des 19. Jahrhunderts beobachteten P h i l i p (1804 und 1826) und W e s t i n g s (1820) erstmalig unter dem Mikroskop die Fähigkeit kleinster Blutgefässe zu eigener Kontraktion. Sie unterschieden noch nicht zwischen Kapillaren und Arteriolen. W e d e m e y e r (1828) und D ö l l i n g e r (1821) widersprachen, indem sie annahmen, dass die meisten Kapillaren erst vom Blutstrom organisiert würden und so den Weg von Arterie zu Vene bahnen. Begriffe wie "Blutgeföhl" und "peripheral hearts" wurden gebildet und während der nächsten Jahrzehnte des 19. Jh. immer wieder aufgegriffen, während die erstgenannten Beobachtungen in Vergessenheit gerieten. 1865 wurde von S t r i e k e r eine unabhängige Kontraktilität der Kapillaren ausfindig gemacht, aber 1867 von C o n h e i m wieder bestritten. R o y und G r a h a m B r o w n machten 1879 Untersuchungen über unabhängige Kapillarkontraktilität, auf Grund derer eine solche in den letzten Jahren des 19. Jh. von vielen Physiologen und Klinikern stillschweigend angenommen wurde, während die allgemeine Haltung der sich mit diesem Problem beschäftigenden Physiologen skeptisch war. 1903 erbrachten S t e i n s e h und K a h n bündige Beweise für dieses Thema, die erstmalig in einem Lehrbuch der Physiologie (Tigerstedt) aufgenommen wurden. Den Anfang einer neuen Epoche im Studium der Kapillaren machten die Arbeiten E b b e e k e 's 1914 und 1917. Er wies auf die von den Arteriolen unabhängige Kapillarkontraktilität hin, die 1917 auch von C o t t e n, S l a d e und L e w i s bewiesen wurde.

Der erste Beitrag K r o g h 's zur Frage der Kapillarkontraktilität wurde 1918 auf Dänisch veröffentlicht, einen

Monat nach dem letzten, auf diesem Gebiet veröffentlichten Forschungsergebnis von D a l e und R i c h a r d s, über die Wirkung dreier pharmakologischer "Depressor-Substanzen" auf die Kapillaren. Sie erschien etwas später im Journal of Physiology (1919). K r o g h s Absicht war es, "die Hypothese zu prüfen, dass eine Regulierung der Blutzufuhr zu den Muskeln durch das Öffnen und Schliessen individueller Kapillaren stattfindet". K r o g h bewies den eigenen Tonus der Kapillaren, die eigene Zusammenziehung- und Erschlaffungsfähigkeit, unabhängig von den entsprechenden Reaktionen in den Arteriolen und Arterien, durch Beobachtungen und Zählungen unter dem Mikroskop an lebenden Objekten, sowie kurz nach Stilllegung des Kreislaufs, nachdem chinesische Tusche in den Kreislauf des anästhesierten Tieres injiziert worden war. Dabei zeigten sich grosse Unterschiede in der Zahl der Kapillaren pro qmm, z.B. ergaben sich für den grossen Bauchmuskel beim Meerschweinchen 86-92 Kapillaren im qmm, entsprechend einem Abstand von 125μ , für das Zwerchfell 2700-2450, entsprechend einem Abstand von 18μ . Beim Frosch zeigte sich, dass Haut, Leber und Gehirn immer gut mit Tusche injiziert war und fast alle Kapillaren geöffnet waren. Der leere Magen und Darm hatte hingegen nur wenige offene Kapillaren. Während bei den meisten Muskeln im Ruhezustand auch nur wenige offene Kapillaren zu sehen waren, sahen Muskeln, die vorher tetanisiert wurden, fast schwarz aus. Aus diesen und anderen Experimenten geht hervor, dass die Weite der Kapillaren hauptsächlich vom eigenen Tonus bestimmt wird. Zu einem gewissen Grad wird sie auch vom Blutdruck beeinflusst, was K r o g h in weiteren Experimenten beweisen konnte. Danach besitzen Kapillaren verschiedener Gewebe eine sehr unterschiedliche Widerstandsfähigkeit gegen den Innendruck. Beim Muskelgewebe erscheint diese Widerstandsfähigkeit sehr gross, in der Haut und Schwimnhaut des Frosches ist sie verhältnismässig gering.

3. Der Bau der Kapillarwand.

Als K r o g h die Untersuchungen über den Bau der Kapillarwand aufnahm, bestanden zwei verschiedene Anschauungen über die Frage, durch welche Mittel die Kontraktion der Kapillaren bewerkstelligt wird. Die eine bestand in der Annahme, dass

durch Protoplasmaschwellung auf Grund von Imbibitionsvorgängen eine Verengung des inneren Durchmessers des Kapillarlumens zustande komme. Die zweite Annahme begründete sich auf das Vorhandensein kontraktiler Zellen in der Kapillarwand, von denen erstmalig R o u g e t 1873 gesprochen hatte. 30 Jahre später hatte Sigmund M a y e r zum zweitenmal darüber berichtet. Von den beiden Theorien war die Imbibitionstheorie aus physikalischen Gründen unhaltbar, während die von der andern geforderte Existenz histologischer Elemente äusserst zweifelhaft war. Auf Veranlassung K r o g h s erschien 1922 eine eingehende Arbeit V i m - t r u p s über Kapillaruntersuchungen bei Amphibien, aus denen das anatomische und physiologische Bild der Kapillaren immer deutlicher sichtbar wurde. Es zeigte sich, dass die Kapillarwand, wie die Wände der kleinsten Arterien und Venen aus zwei verschiedenen Elementen, dem Endothelrohr und der äusseren Muskelhülle besteht. Der wichtigste Unterschied liegt in der Anordnung der Muskeln. In den Kapillaren ist die Muskelhülle keine zusammenhängende Schicht, die die Wanddicke vergrössert und dem Stoffaustausch beträchtlichen Widerstand entgegensetzt, sondern ist mehr oder weniger in Form eines weitmaschigen Netzes angeordnet, das den grösseren Teil der Endotheloberfläche unbedeckt lässt und geeignet ist, die Stoffe hindurchzulassen. Diese Muskelzellen besitzen feine Fibrillen, die das eigentliche kontraktile Element ausmachen. Diese Muskelhülle der Kapillaren besitzt auch einen gewissen Tonus, der nervösen, hormonalen und anderen Einflüssen im Organismus unterliegt.

Der Durchmesser einer Kapillare wird im Ganzen durch den Kontraktionszustand ihrer Muskelhülle bestimmt. Aus der Gestaltänderung des Umrisses und der Veränderung der Kerne in den Endothelzellen geht jedoch hervor, dass auch das Endothelrohr selbst eine normale Form und Weite haben muss, die es annimmt, sobald Aussen- und Innendruck völlig gleich sind. Ist der Aussen- oder Innendruck höher, so fällt das Rohr zusammen. Kontrahieren sich die Rouget-Zellen, so wird es gefaltet. Sind sie schlaff und der Innendruck auch nur um ein geringes höher als der Aussen- oder Innendruck, so wird es erweitert, die Endothelzellen werden passiv gedehnt, ihre Oberfläche vergrössert, ihre Dicke vermindert und ihre Kerne abgeplattet.

V i m t r u p verwendete zur Darstellung der Rouget-Zellen, (nachträglich von K r o g h so benannt), eine supravitale Methylenblaufärbung. Seine Untersuchungsergebnisse wurden von Z i m m e r m a n n (1923) und S c h a l y (1926) bestätigt und 1928 von ihm selbst weiter ausgearbeitet. Danach bestand kein Zweifel mehr über die Tätigkeit der Rougetzellen und die Längsfaltung des Endothels. Bisher waren die Rougetzellen nur bei Amphibien und einigen Säugetieren gefunden worden. V i m t r u p fand sie auch an menschlichen Hauptkapillaren und im interstitiellen Bindegewebe. Über Form und Struktur der Rougetzellen, die je nach dem Organ, in dem sie sich finden, verschieden sind, gab K r o g h genaue Messungen an.

Am Beispiel der AlveolarKapillaren in der Froschlunge veranschaulichte K r o g h in kinematographischen Aufnahmen die elastischen Eigenschaften von Geweben im Bilde der Erythrocytenbewegung. Über arterio-venöse Anastomosen fanden zahlreiche Beobachtungen in K r o g h s Laboratorium statt, die die Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen auf diesem Gebiet (H o g e r, G r o s s e r, H e i m b e r g e r) bestätigten. Im Zusammenhang mit den Kapillaruntersuchungen veröffentlichte K r o g h auch seine Beobachtungen über den "Blutdurchfluss in mikroskopisch kleinen Gefässen", über den Achsialstrom, das "Auswaschen", das "Nichtvorhandensein von Vasa serosa" und über die Formveränderung der Erythrocyten in Kapillaren.

4. Die Innervation der Kapillaren.

Nachdem schon von verschiedenen Seiten eine Innervation der Kapillarwand durch den Sympathicusgrenzstrang vermutet und nachzuweisen versucht worden war, führte K r o g h 1922 Untersuchungen durch, die bewiesen, dass durch elektrische Reizung der unteren Ganglien des Sympathicusstranges eine Verengung zuerst an den Arterien und einige Sekunden später auch an den Kapillaren in der Froschwimmhaut zustande kam. Die Kapillarkontraktionen konnte man von dem Punkt in Gang kommen sehen, wo die Kerne der Rougetzellen lagen;

(worüber K r o g h eindrucksvolle Filme anfertigte). Beim Frosch stellte K r o g h den gleichen sympathischen Tonus bei Arterien und Kapillaren fest. Nach Entfernung der sympathischen Ganglien trat nach kürzerer oder längerer Zeit eine Erweiterung der Kapillaren ein, die maximal bis zu 100 Tagen anhielt. Nach Wiederherstellung des Tonus war die Regulierung des Kapillarzustandes in der Schwimmhaut gewöhnlich sehr unvollkommen. Jedoch liess sich nicht bei allen Geweben des Frosches ein sympathischer Tonus nachweisen, z.B. nicht bei der Froschzunge, was K r o g h zu weiteren Versuchen veranlasste. Beim Frosch erzeugte elektrische Reizung der hinteren Wurzeln eine Erweiterung sowohl der Kapillaren, als auch der Arterien in Haut und Schwimmhaut, was zuerst von D o i 1920 gezeigt wurde und 1922 von K r o g h und R e h b e r g bestätigt werden konnte. Dass die Arterienerweiterung nicht für die beobachtete Kapillarreaktion verantwortlich war, wurde von D o i durch Versuche mit Acetylcholin bewiesen. Trotzdem auch hier nicht in jedem Fall durch elektrische oder mechanische Reizung der sensiblen Nerven eine Erweiterung bewirkt wurde, z.B. nicht am Kaninchenohr, sieht doch K r o g h schon in den Symptomen des Herpes zoster einen Beweis dafür, dass zahlreiche Kapillaren von Beinen und Rumpf und wenigstens die Mehrzahl der Kapillaren vom Kopf in unmittelbarer Verbindung mit Hinterwurzelfasern stehen und erweitert werden, wenn jene, wahrscheinlich mechanisch, durch pathologische Vorgänge, gereizt werden. B a y l i s s erbrachte den histologischen Nachweis, dass die in Betracht kommenden dilatatorischen Fasern nicht zu unterscheiden sind von gewöhnlichen bipolaren sensiblen Nervenfasern mit ihren Zellen im Spinalganglion.

Über das Reflexerythem beim Menschen waren von M ü l l e r (1913) und E b b e c k e (1917) Untersuchungen vorgenommen worden. K r o g h und seine Mitarbeiter untersuchten diese Gefässreaktion am Kaninchenohr und am Frosch. Während es sich bei Säugetieren um einen echten Reflex dabei handelt, (Schmerzpunkte der Haut- Hinterwurzelfasern - RM - sympathische Fasern) zeigte K r o g h, dass es sich bei niederen Tieren um einen lokalen nervösen Mechanismus handeln musste, einen Axonreflexmechanismus, sowohl im sensiblen Fasersystem, als auch im

sympathischen. Dies stimmt, wie K r o g h sagt, mit der allgemeinen Entwicklungsrichtung im Nervensystem der Wirbeltiere überein, bei der eine "Tendenz" zu zunehmender Zentralisierung unverkennbar ist. K r o g h nimmt an, dass es eine Art von Fasern gibt - diejenigen die Schmerz vermitteln - die an ihren Enden H-Substanz freisetzen, wenn sie entweder im Spinalganglion gereizt werden, entlang ihres Verlaufes (antidrom) oder in der Peripherie (Erythem erzeugend).

Der Begriff des Axonreflexes war ursprünglich von L e n g e l e y (1900) entwickelt worden. K r o g h und W e r n ö e haben sich eingehend mit dem langen Axonreflex befasst und gelangten zu dem Begriff der Zusammengehörigkeit bestimmter Hautzonen zu inneren Organen durch Versuche an Fischen, bei denen sie innere Organe reizten und dadurch eine Veränderung in den sympathisch innervierten Chromatophoren der Haut erzielten. K r o g h nimmt an, dass die Nervenfasern von sympathischen Ganglienzellen sich in Zweige, die zu inneren Organen gehen und solche, die zur Haut gehen, aufteilen, so dass es sich um typische postganglionäre Axonreflexe handelt. K r o g h und W e r n ö e wandten die gefundenen Resultate auch zur Erklärung des Phänomens hyperästhetischer Zonen beim Menschen an.

Als verantwortlich für die verschiedenen Kapillarphänomene beschreibt K r o g h ausser den Axonreflexen auch reguläre Spinalreflexe, sowie den doppelten Mechanismus eines echten Reflexes zusammen mit einem lokalen Axonreflex. Im ersten Fall ist die afferente Bahn immer in sensorischen Nerven verschiedenster Gattung zu sehen; in allen näher untersuchten Fällen gehörten die efferenten Bahnen zum dorsalen Sympathicus. Der Reflexmechanismus ist entweder eine Zunahme oder Abnahme im sympathischen Tonus der betreffenden Kapillaren. Im kombinierten Fall ist der lokale Axonreflex eine schwächere Reaktion und Begleiterscheinung. K r o g h unterschied also zwei Mechanismen als Erklärung für die Ausbreitung eines Reizerfolges: beim Axonreflex erfolgt die Ausbreitung über einen sehr beschränkten Bezirk, der die gereizte Stelle direkt umgibt, während bei den echten Reflexen die Reaktion einen viel grösseren Bezirk ergreifen kann mit

unregelmässigen unscharfen Grenzen, oder sogar Bezirke ergreift, die vom direkt gereizten ganz getrennt sind. Über den Mechanismus der Temperaturregulierung stellte K r o g h Versuche am Kaninchen an, durch die gezeigt wurde, dass die Temperatur der Haut in erster Linie durch die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes bestimmt wird, die ihrerseits vom Kontraktionsgrad der Arterien und Arteriolen abhängt, während die Farbe der Haut von der Weite der Hautkapillaren abhängt und nicht von der Strömungsgeschwindigkeit in ihnen. Er bestätigte in diesen Versuchen den Mechanismus der Hautgefässreaktion, die als Reflexbogen über den Sympathicus bekannt ist und gelangte zu der Annahme eines Nervenzentrums für Wärmeregulation im Corpus striatum, wie es 1921 auch von B a r b o u r angenommen wurde. Durch Versuche über den vasomotorischen Psychoreflex gelangte K r o g h zu der Annahme eines Reflexbogens, der typische Hirnzentren einschliesst und der seinem Wesen nach zum selben Typus gehört, wie der Reflexbogen, der für die emotionellen Gefässreaktionen beim Menschen verantwortlich ist. In Analogie zu seinen Versuchen am Kaninchenohr nahm K r o g h an, dass affektive Blässe, wenigstens in der Hauptsache, durch eine Zunahme des sympathischen Tonus der kleinen Hautgefässe zustande kommt, während das Rotwerden auf einer reflektorischen Erschlaffung dieses Tonus beruht.

5. Reizreaktionen der Kapillaren.

Versuche über die Reizreaktionen der Kapillaren führten zu den Begriffen von direkter und indirekter Kapillarreaktion, denen gemeinsam zu Grunde liegt, dass die Rougetzellen, wie glatte Muskelzellen, durch den Einfluss verschiedener Reize in einen Kontraktions- oder Erschlaffungszustand versetzt werden. So z.B. fand K r o g h durch Versuche am Kaninchenohr, dass die Erweiterung infolge lokal applizierter Wärme zum Teil reflektorisch, zum Teil durch lokalen Mechanismus bedingt ist, der in diesem Fall als eine direkte Wirkung auf die Muskelzellen anzusehen ist. An der Froschzunge bewirkte Kälte eine Erschlaffung der Kapillaren ohne vorhergehende Konstriktion, ("paralyzed by cold"), verursacht durch eine direkte Beeinflussung der Rougetzellen durch die Temperatur.

In den Erläuterungen über Kapillarerreaktionen auf Lichtbeeinflussung basierte K r o g h auf den 1900 von N i e l s F i n s e n gemachten aufschlussreichen Experimenten.

Bei chemischer Reizwirkung auf die Kapillaren unterscheidet K r o g h mit H e u b n e r (1907) zwischen entzündlichen Giften und Kapillargiften, wobei entzündliche Gifte eine Reizeinwirkung auf alle Gewebselemente haben. Kapillargifte sind Goldsalze, mehrere Doppelsalze von Schwermetallen aus der Gold- und Eisengruppe, Arsen und die organischen Basen Emetin und Sepsin. 1925 versuchte H e u b n e r eine mehr detaillierte Analyse der Wirkungen von Substanzen auf Kapillaren zugeben und unterschied zwischen Substanzen, die nur auf Kapillaren wirken, als deren Typ er Dionin bezeichnete und solchen, die auf Kapillaren und Nerven wirken (Histamin) oder auf Kapillaren und Gewebszellen (Arsen), oder auf Kapillaren, Nerven und Gewebszellen (Senföl).

Über die Kapillarerweiternde Wirkung von Histamin und Acetylcholin wurden 1922 unter K r o g h s Anleitung zahlreiche Versuche durchgeführt. Die von Schmerz begleitete lokale Histaminwirkung auf die menschliche Haut legte die Vermutung nahe, dass die kapillarerweiternde Histaminwirkung von vielen Bedingungen abhängig zu sein scheint, von deren Verständnis man noch entfernt ist. Aus Untersuchungen von D a l e s (1919), D o i (1920), F e l d b e r g (1927), L e w i s und M a r v i n (1927) ging hervor, dass Histamin ein Kapillargift für Hunde, Katzen, Affen, Kaninchen, Vögel und für den Menschen ist. Auf Froschkapillaren konnte K r o g h keine dilatatorische Wirkung nachweisen. - Histamin scheint normalerweise in der Schleimhaut des Dünndarms gebildet zu werden (D a l e und B e r g e r, 1911). 1927 konnte Histamin in relativ grosser Menge aus Leber und Lunge isoliert werden. L e w i s demonstrierte in der menschlichen Haut eine vasodilatatorische Substanz, die wie Histamin wirkt. Aus diesen Tatsachen ging deutlich hervor, "dass Histamin die dilatatorische Substanz für die Kapillaren sein kann, die im Organismus der Warmblüter regulär wirksam ist, während man annehmen muss, dass bei Fröschen eine andere Substanz in gleicher Weise wirksam ist". Deshalb scheint es K r o g h gegeben, Histamin als Dilator-Hormon anzusprechen, das als ein reguläres Hormon von verschiedenen Gewebszellen gebildet

wird und auf die Kapillaren in der nächsten Nachbarschaft wirkt.

6. Kapillarreaktionen auf narkotische Mittel.

Über die Kapillarreaktionen auf narkotische Mittel liegen zahlreiche Versuche vor. So fand K r o g h, dass Urethan auf der Froschzunge selektiv kapillarerweiternde Wirkungen ausübt. Urethanversuche an der cocainisierten Oberfläche der Froschzunge zeigten, dass der Erfolg wenigstens von starken Lösungen teilweise indirekt ist. An der anästhesierten Oberfläche entwickelte sich die Reaktion viel langsamer. Die Wirkung der flüchtigen Narkotika wie Chloroform u.a. ist der des Urethans ähnlich, aber Chloroform zeigte ausserdem eine sehr eigenartige Wirkung auf die roten Blutkörperchen, die unter seiner Einwirkung stark aneinander und an den Kapillarwänden kleben. Narkotisierte Tiere erwiesen sich gegen Histaminwirkung weitaus empfindlicher (wie D a l e und L a i d l a w 1919 schon zeigen konnten). Je tiefer die Narkose, desto grösser ist die Schockneigung. Diese Beobachtungen erklärte K r o g h folgendermassen: "Die gewöhnlichen Narkotika haben schon selber eine kapillarerweiternde Wirkung, die bei der, zu völliger Betäubung führenden Konzentration zwar als solche unmerklich ist, aber doch ausreicht, um einen mehr oder weniger vollständigen Tonusverlust in den Kapillaren zu verursachen, wenn sich ihre Wirkung mit der eines anderen Kapillargiftes summiert. Es ist ganz verständlich und sogar wahrscheinlich, dass eine synergistische Wirkung stattfinden kann, in dem Sinne, dass der kombinierte Erfolg zweier solcher Substanzen grösser ist, als der einfachen Addition der beiden Einzelwirkungen entspricht. Die Art des verwendeten Narkotikums, Chloroform, Aether oder Urethan, scheint ohne Einfluss zu sein. Jedoch ist mit Sicherheit festgestellt, dass Narkose mit Stickoxydul ungefährlich ist."

7. Die Bedeutung der Wasserstoffionen für die Kapillartätigkeit.

Auf Grund der bekannten Versuche von C h e u v e a u und K a u f m a n n (1887), die gezeigt hatten, dass die Blutzufuhr zu tätigen Organen vermehrt ist und dass diese funktio-

nelle Hyperämie durch irgendeine Reaktion von Seiten des tätigen Gewebes selbst entstanden sein muss, war die allgemeine Ansicht, dass gesteigerte Tätigkeit untrennbar mit vermehrter Bildung saurer Stoffwechselprodukte, bes. Kohlensäure verbunden ist. K r o g h konnte mit Hilfe verschiedener Experimente darauf hinweisen, dass es "durchaus möglich, ja wahrscheinlich ist, dass Stoffwechselprodukte, die während der Tätigkeit gebildet werden, eine erweiternde Wirkung auf Kapillaren und Arterien haben, aber sehr unwahrscheinlich ist, dass eine solche Wirkung auf ihren sauren Eigenschaften beruht". Seinen Versuchen schickt K r o g h voraus, dass jede Saure oder jede Substanz mit saurer Reaktion eine Wanderung von Wasserstoffionen ins Gewebe, höchstwahrscheinlich durch Diffusion, veranlasst, wenn sie mit lebendem Gewebe in Berührung gebracht wird. Diese H-Ionen werden ihrerseits die H-Ionenkonzentration des Gewebes erhöhen, aber bis zu welchem Grade das stattfindet, kann nicht vorausgesagt werden, weil die lebenden Gewebe und das Blut die sog. Puffersubstanzen, namentlich Bicarbonate, enthalten und sich durch chemische Bindung gegen jeden Anstieg ihrer H-Ionenkonzentration wahren.

Versuche mit 1%iger Essigsäure auf die cocainisierte und nicht-cocainisierte Froschzunge zeigten, dass eine gewisse Zunahme der H-Ionenkonzentration die sensiblen Nervenendigungen der Zunge beeinflusst und ausserdem direkt die glattmuskuligen Elemente der Arteriolen und in geringem Grade auch die der Kapillaren trifft und zu einer Erweiterung sowohl der Arterien wie der Kapillaren führt. Andere Versuche mit Kohlensäurewirkung ergaben, dass zwar die Gefässe und besonders die Arterien der Froschzunge unter dem Einfluss einer gesteigerten H-Ionenkonzentration erweitert werden, dass aber diese Reaktion keine wesentliche Rolle bei der normalen Regulierung der Blutzufuhr spielen kann und wahrscheinlich als Mittel zur Regulierung des Kapillarkreislaufs überhaupt nicht in Frage kommt. Versuche am Kaninchen zeigten, dass ein vermehrtes Venöswerden des Blutes eine arterielle und kapilläre Erweiterung verursacht, wobei unentschieden bleibt, ob die Erweiterung zentralen oder peripheren Ursprungs ist und ob sie auf Zunahme der CO_2 -Spannung oder auf Sauerstoffmangel oder auf beidem beruht. Bei Prüfung des

Einfluss von Sauerstoffmangel zeigte sich beim Kaninchen zunehmende Hyperämie der Ohren bei grösser werdendem Sauerstoffmangel. K r o g h nimmt an, dass in diesem Falle zweifellos organische Säuren gebildet werden und im Blute, vielleicht in beträchtlicher Menge vorhanden sind, dass sie aber nicht im Stande sind, die H-Ionenspannung des Blutes in nennenswertem Grade zu steigern, da sie nur CO₂ freimachen und diese durch die Lungen abgegeben wird. So kann, wie K r o g h annimmt, die H-Ionenkonzentration nicht für die Hyperämie verantwortlich sein, die vielmehr in irgendeiner anderen Weise mit dem Sauerstoffmangel zusammenhängen muss. Um nun festzustellen, ob die auf Sauerstoffmangel beruhende Hyperämie zentralen oder peripheren Ursprungs ist, durchtrennte K r o g h den Halssympathicus auf einer Seite und die vorderen und hinteren Ohrnerven selbst. Aus dem Ergebnis war zu schliessen, dass mindestens ein wesentlicher Teil der Kapillarerweiterung auf einer peripheren Wirkung des Sauerstoffmangels beruhte. Wie auch Versuche von R o t h l i s (1920) bestätigten, übt Sauerstoffdruck einen tonisierenden Einfluss auf die Arterienwand aus.

8. Adrenalin.

Über die Adrenalinwirkung auf Kapillaren und Arteriolen, von der bis dahin fast als ein Axiom in der Physiologie angenommen wurde, dass sie streng sympathicomimetisch sei, hat K r o g h eingehend experimentiert. Er kam zu dem Schluss, "dass es nicht unwahrscheinlich ist, dass Adrenalin irgend etwas mit der Aufrechterhaltung des Kapillartonus bei jenen Tieren zu tun haben mag, deren Kapillaren für die konstriktorische Adrenalinwirkung deutlich empfindlich sind". "Krogh hält es aber doch für sehr unwahrscheinlich, dass es das allgemeine Hormon für die Aufrechterhaltung des Kapillartonus sein sollte, zumal sich eine andere Substanz mit deutlich tonisierender Wirkung auf die Kapillaren im zirkulierenden Blut der Säugetiere allgemein nachweisen lässt. Die konstriktorische Adrenalinwirkung auf menschliche Hautkapillaren wurde in K r o g h s Laboratorium einwandfrei festgestellt und bestätigt.

9. Die hormonale Beeinflussung des Kapillarkreislaufs.

Die bekannte Erscheinung, dass nach zeitweiliger Unterbrechung der Blutzufuhr, z.B. am Menschenarm oder Kaninchenohr, eine Hyperämie mit Kapillarerweiterung erfolgt - zu deren Erklärung man Sauerstoffmangel anführte - veranlasste K r o g h, eine Substanz zu suchen, die als Haupthormon zur Erhaltung des Kapillartonus in Frage kommt. Den Sauerstoffmangel stellte K r o g h in seinen Versuchen ausser Frage. Die gewonnenen Resultate dieser Versuche bewogen ihn zu der Annahme, dass im Blute irgendetwas ist, das für die Erhaltung der Kontraktibilität der Rougetzellen erforderlich ist und langsam verschwindet, wenn die Zufuhr frischen Blutes abgeschnitten ist. Diese Hypothese war die Voraussetzung für die weiteren Forschungen nach einem X-Hormon, das auf die Rougetzellen an der Aussen-seite der Kapillarwand einwirkt und durch das umgebende Gewebe oder durch die Rougetzellen selbst rasch zerstört, wahrscheinlich oxydiert wird, da stagnierendes Blut seine Fähigkeit zur Erhaltung des Kapillartonus rasch einbüsst. Diese postulierten Eigenschaften führten zu dem weiteren Schluss, dass X ein verhältnismässig einfacher Stoff mit ganz mässiger Molekülgrösse sein muss, - da die Substanz imstande sein muss, durch die Kapillarwand zu diffundieren, - ähnlich also solchen Hormonmolekülen wie Adrenalin oder Thyroxin. Da diese bekannten Hormone unspezifisch sind, nimmt K r o g h an, dass identische Stoffe im Blut jedes einzelnen Wirbeltieres vorhanden sind. Diese Annahme führte zu seinen Experimenten mit Säugetierblutdurchspülung der Kapillaren in der Schwimnhaut von Fröschen. Schon die ersten Versuche zeigten, dass Rinderblut die Kapillaren der Froschschwimnhaut längere Zeit in normal verengtem Zustand halten konnte, während nach Durchspülung mit Ringerlösung (unter Zusatz roter Blutkörperchen zur Färbung) eine Erweiterung mit folgender Stasebildung eintrat. Da die Hypothese verlangte, dass es sich um einen diffundierenden Stoff X handeln müsse, wurde ein Dialysat aus Rinderblut hergestellt, das dann auch imstande war - wenigstens eine zeitlang - den Tonus der Hautkapillaren von Fröschen zu erhalten. Zu diesen

Durchspülungsversuchen konstruierte K r o g h einen Apparat zu rhythmischer Durchspülung, da einerseits die in der Durchspülungsflüssigkeit enthaltenen roten Blutkörperchen eine rhythmische Durchströmung notwendig machten um Agglutination zu verhindern, andererseits die Vermutung bestand, dass diese wirksamer sei als kontinuierliche.

Das Prinzip des Apparates zu rhythmischer Durchströmung beruht im wesentlichen darauf, dass ein bestimmter systolischer und diastolischer Druck durch Druckregulatoren reguliert wird, während ein Metallhahn durch einen kleinen Motor in regelmässigem Tempo, entsprechend dem Pulsrhythmus, gedreht wird. Zur Verbesserung der Dialysiermethode konstruierte K r o g h einen Dialysierapparat nach dem Prinzip eines Gegenstromdialysators, wie er im Rete mirabile der Sauerstoffdrüse des Aals naturgegeben ist. K r o g h benutzte diesen Dialysierapparat mit 4 Walpole-Colloidiummembranen und schickte einen Strom meist defibrinisierten Blutes durch den einen Kanal mit einer Geschwindigkeit von 1,2 L in 24 Stunden. Ihm entgegen wurde ein Strom von Säugetierringer mit der Geschwindigkeit von 0,5 L in 24 Stunden geleitet. Alles bei einer Temperatur von 3-6° C.

Versuche zur Isolierung der Substanz zeigten zunächst Unlöslichkeit der K-Substanz in Aethylalkohol. In diesem Stadium der Versuche K r o g h s trat eine Wendung in der Forschungsrichtung ein, durch das Aufmerksamwerden auf die Funktionen der Hypophyse. 1920 erschien eine Arbeit von P o h l e, die die Entstehung von Hautödemen bei Fröschen nach operativer Entfernung der Hypophyse beschrieb. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass Oedeme sehr oft in ursächlichem Zusammenhang mit einem Zustand von Kapillarerweiterung stehen, führten K r o g h und R e h b e r g daraufhin eine operative Hypophysenentfernung beim Frosch durch. Das Ergebnis nach Extirpation war eine Kapillarerweiterung, die nach 24 St. auftrat und 1-2 Wochen anhielt. Danach erhielten die Kapillaren wieder ihre Kontraktionsfähigkeit, aber der Hautkreislauf war durch grosse Labilität charakterisiert. Gewöhnlich überlebten die Frösche die operative Hypophysenentfernung nur 3-4 Wochen. Gleichzeitig mit der Veränderung im Kapillarkreislauf trat ausserdem, wie K r o g h eindrucksvoll beschreibt, eine Aufhellung der Pigmentierung des Frosches ein, verursacht durch eine

Zusammenziehung der Pigmentzellen. Nach unvollständiger Extirpation (nur Drüsenanteil) erwiesen sich die Anfangswirkungen auf den Hautkreislauf und die Pigmentierung ebenso wie nach Entfernung der ganzen Hypophyse, aber nach spätestens einer Woche stellte sich der normale Zustand wieder her. Die Tiere überleben. K r o g h schloss daraus: "dass die Bildung des Kapillarrhormons nicht dem Drüsenanteil selbst zuzuschreiben ist und seine Entfernung nur zeitweise die Funktion des eigentlich wirksamen Gewebes stört, das entweder im nervösen oder im Zwischenteil zu lokalisieren ist." Injektion von käuflichem Pituitrin in die Schwimmhaut des Frosches verursachte sowohl Verengung der Arterien, als auch der Kapillaren, während die Venen unbeeinflusst blieben. In der Folge führte K r o g h zahlreiche Durchspülungsversuche mit Hypophysenextrakten bei Fröschen durch und konnte genaue Angaben machen über Wirkungsweise und Konzentration des vasopressorischen Faktors in der Hypophyse. 1/10000 käufliches Pituitrin als Zusatz zur Durchspülungsflüssigkeit brachte die Durchspülung zum Stillstand, indem es vollständige Kontraktion von Arterien und Kapillaren hervorrief. Der Zusatz von 1/50000 bis 1/1.000.000 Pituitrin zeigte im allgemeinen den gewünschten Erfolg, den Kapillartonus zu erhalten ohne völlige Kontraktion zu bewirken und ohne merklichen Einfluss auf die Arterien zu haben. Der Zusatz von 1 Teil Pituitrin auf 5 Mill. Teile Durchspülungsflüssigkeit hatte keinen erkennbaren Einfluss.

Der Einfluss von Pituitrin kam sehr deutlich in Durchspülungsversuchen ohne Gummizusatz zum Vorschein, denn bei solchen Lösungen tritt in Abwesenheit von Pituitrin Stase ein, sobald die Kapillaren erschlaft sind, (wenn die Kapillaren über einen gewissen Punkt hinaus erweitert sind, findet eine sich beschleunigende Filtration statt, durch die zuletzt Stase eintreten kann). Ist ein geeignetes Kolloid vorhanden, so ist die Filtrierung von Wasser durch die normale Kapillarwand so gut wie verhindert und Stase kann erst dann eintreten, wenn die Kapillarwand für die Gummimoleküle durchlässig wird. Unter Zusatz von Gummi also und bei niedrigem Druck, d.h. unter Bedingungen, die den physiologischen möglichst nahe kommen, kann der Kreislauf ohne Zusatz von Pituitrin längere Zeit erhalten bleiben, aber nach der ersten

halben Stunde etwa werden fast alle Kapillaren stark erweitert und bleiben weit, während mit Pituitrin so gut wie alle Kapillaren eng bleiben. Bei diesen Versuchen zeigte es sich, dass das käufliche Pituitrin ebenso eine Ausdehnung der schwarzen Pigmentzellen bewirkt, wie es das aus der eigenen Hypophyse des Frosches stammende, im Blut zirkulierende Hormon tut. Daraus schloss man, dass das Hormon im Froschblut in Konzentrationen zirkuliert, die zwar beträchtlich schwanken, aber gewöhnlich Konzentrationen von etwa 1:100.000 bis 1:1000.000 Pituitrin (P a r k e, D a v i s) entsprechen.

Einige Durchspülungsversuche mit passenden Lösungen von Adrenalin anstatt Pituitrin hatten keinen Einfluss auf den Tonus der Kapillaren erzielt.

Nachdem sich nunmehr die beiden Resultate gegenüberstanden: einerseits das Hypophysenhormon, das in sehr grosser Verdünnung spezifisch auf die kontraktile Elemente bestimmter Kapillaren einwirkt, indem es ihre tonische Kontraktion steigert, andererseits die X-Substanz mit ähnlicher Wirkung auf dieselben Kapillaren, als normaler Bestandteil im Blute bestimmter Säugetiere, trat die Frage nach der Identität dieser beiden Stoffe auf. Durch Prüfung der Dialysierbarkeit und Löslichkeit und der übrigen chemischen Reaktionsweisen beider Substanzen beantwortete K r o g h diese Frage dahingehend, dass mit Sicherheit anzunehmen sei, "dass ein von der Hypophyse erzeugtes Hormon, das sowohl auf die kontraktile Elemente der Hautkapillaren des Frosches als auch auf die Melanophoren der Froschhaut einwirkt, normalerweise im Säugetierblut vorhanden ist. Die Konzentration dieses Hormons im Blute schwankt. Sie entspricht etwa dem 10.000tel bis millionsten Teil der Konzentration im Parke-Davis-Pituitrin, wahrscheinlich im Durchschnitt dem hunderttausendsten Teil. (Die Konzentration der wirksamen Substanz im käuflichen Extrakt ist wahrscheinlich sehr klein, oder wahrscheinlich nach nicht über ein Tausendstel und sie kann noch beträchtlich geringer sein. Die Konzentration der wirksamen Substanz selbst im Blut hat daher vielleicht die Grössenordnung von einem Teil auf hundert Millionen, kann aber auch noch viel kleiner sein.)"

Versuche darüber wurden 1921 von K r o g h und H a r r o p durchgeführt. 1926 experimentierte K r o g h mit Pferdeserum und erhielt eine Pituitrin-Konzentration von 10^{-4} internationalen Einheiten per ccm. Dabei war die Konzentration im Blut der Vena jugularis ca. 50% höher als im Blut der Vena saphena. Die niederste Konzentration, die noch eine erkennbare Wirkung auf die Melanophoren zeigten, war um 10^{-6} pro. ccm. Dass Pituitrin in dieser niedrigen Konzentration auch eine ganz bestimmte Wirkung auf die Hautkapillaren bei Säugetieren und Mensch hat, wurde 1922 bewiesen. Die blutdrucksteigernde Wirkung des Pituitrins wurde 1926 bewiesen.

Bei der Gegenüberstellung von Adrenalin und Pituitrin als zwei Hormonen, die normalerweise im zirkulierenden Blut anwesend sind und beide befähigt, auf Kapillaren und Arteriolen zu wirken, kam K r o g h zu der folgenden Definition beider Wirkungsweisen: "Eine minimale Dosis Adrenalin, die injiziert wird oder einer Durchspülungsflüssigkeit beigelegt wird, vermindert normalerweise den Blutstrom zu den beobachteten Organen und diese Wirkung ist zweifellos durch eine Konstriktion der Arteriolen hervorgerufen. Pituitrin scheint dagegen in kleinen Dosen keine Wirkung auf das Volumen des Blutstroms zu haben, aber eine bestimmte Wirkung auf die Blutfärbung, die durch eine Verengerung der Hautkapillaren und Venen hervorgerufen wird. Danach kann man Adrenalin als ein Arteriolen-Hormon bezeichnen, Pituitrin als eine Substanz, die ein Kapillärhormon enthält (jedoch muss hinzugefügt werden, dass bis dahin die Pituitrinwirkung in physiologischer Konzentration nur für die Hautkapillaren festgestellt wurde)."

Die gewonnenen Kenntnisse über Kapillaren und ihre Reaktion wandte K r o g h an, um bestimmte Kapillarreaktionen zu analysieren, die vornehmlich an der menschlichen Haut zu beobachten sind. Nachdem 1912 L o m b a r d die mikroskopische Beobachtung der Hautkapillaren methodisch zugänglich gemacht hatte und 1916 aus der Klinik von Ottfr. M ü l l e r Abhandlungen erschienen waren über Änderungen im Aussehen der Kapillaren, besonders des Nagelwalls, bei allerlei Krankheiten, führte K r o g h in seinem Laboratorium eingehende Beobachtungen der Blutströmung in den Kapillaren am Nagelwall, in der Haut des Handrückens und in anderen Geweben durch. K r o g h beschreibt hier ein abwechselndes Sichöffnen und

wieder Schliessen der Kapillaren, wodurch eine angemessene, wenn auch intermittierende Versorgung der Zellen gewährleistet wird, wobei im betreffenden Gewebe das Blut mit ausserster Sparsamkeit ausgenutzt wird, da jederzeit nur das gerade notwendige Minimum in einem Gewebe vorhanden ist. Als Ursache einer derartigen Regulierung sieht K r o g h einerseits Stoffwechselprodukte an, die sich anhäufen und durch ihre Einwirkung das Öffnen eines nahegelegenen Gefässes veranlassen, darunter als massgeblichen Faktor Sauerstoffmangel, oder aber das Hypophysenhormon.

Ebenso beschreibt K r o g h die als Dermographismus bekannten lokalen vasomotorischen Reaktionen nach mechanischen Reizen. Die Kenntnis dieser Reaktion ist deshalb von Wert, weil sie die Verschiedenheit des Verhaltens verschiedener Kapillaren hervorhebt und damit ein Licht wirft auf den Haushalt des Organismus.

Zu den Befunden von B i e r (1897 und 98) und Z a k (1921) über reaktive Hyperämie und Kapillarreaktion auf venöses Blut (auf Grund eines "Blutgeföhls" der Kapillaren erfolge Kontraktion der Kapillaren auf venöses Blut) nahm K r o g h Stellung und analysierte die Befunde dahingehend, "dass venöses Blut niemals eine lokale Kontraktion von Kapillaren hervorbringt, sondern in allen untersuchten Fällen eine deutliche, oft sehr ausgesprochene dilatatorische Wirkung ausübt, die jedoch unter bestimmten Umständen von starken Kontraktionsreizen überwogen werden kann, die direkt oder durch Vermittlung sympathischer Nervenfasern auf die Rougetzellen einwirken."

Bei Behandlung der Frage, wie sich die Prozesse im Organismus regulieren, unterscheidet K r o g h zwischen einer arteriomotorischen und einer capillarmotorischen Regulierung. "Durch Erweiterung der Arteriolen nimmt der Blutstrom in der Minute und für die Einheit des Gewebes zu, während die Kapillaren praktisch unverändert bleiben, so dass nur eine Zunahme der Strömungsgeschwindigkeit entsteht. Das genügt für die Verteilung der Wärme und verbessert die Bedingungen für den Stoffaustausch durch Zunahme der Konzentrationsunterschiede diffusibler Substanzen. Eine wesentliche Verbesserung der Bedingungen für den Stoffaustausch kann jedoch nicht allein durch Zunahme der Strömungsgeschwindigkeit erreicht werden, sondern

benötigt eine Regulation im Kapillarsystem selbst. Wenn sich die Kapillaren erweitern, vergrössert sich die Oberfläche für den Stoffaustausch im Verhältnis der Zunahme des Kapillarsystem diameters und wenn neue Kapillaren sich öffnen, verringert sich der Abstand zwischen Gewebszellen und Blut. In manchen Geweben sind im Ruhezustand nicht alle Kapillaren offen, in anderen dagegen erscheinen alle Kapillaren normalerweise geöffnet, während nur ihr Durchmesser Gegenstand der Regulation ist."

Für diese Erklärung führt K r o g h zahlreiche Beispiele von Geweben an. Bei der menschlichen Haut variiert der Zustand der Kapillaren nicht nur in den verschiedenen Regionen, sondern ist individuell verschieden. (Versuchsreihen von 1927). K r o g h entwickelte die Theorie, dass das Geöffnetsein der Kapillaren fortwährend unter den Kapillaren wechselt, so dass eine Zelle, die im Moment darbt, sogleich alles was sie benötigt von einer in ihrer Nähe gelegenen neu eröffneten Kapillare bekommt. So würde gleichzeitig das Blut mit grösster Ökonomie ausgenützt.

Beobachtungen des Kapillarzustandes am Kaninchenohr während beginnender Asphyxie führte K r o g h zur Erklärung der Totenblässe beim Menschen, als deren Ursache er einen überwiegenden Einfluss von Seiten der bulbären Zentren entlang sympathischer Fasern ansieht.

Während die hämorrhagische Blässe als ursächlich für die Kapillarreaktion nach Blutverlust aufgefasst wurde, führt K r o g h sie auf Veränderungen im Pfortaderkreislauf zurück.

Zur vasoneurotischen Konstitution, wie sie P a r r i s i u s 1921 beschrieb, nahm K r o g h eingehend Stellung. Er bezeichnet sie als "durch grosse Labilität oder Unausgeglichenheit der Innervation des Gefäßsystems gekennzeichnet, die sich in den Kapillaren ebenso wie in den Arterien äussert. Häufiger Wechsel der Innervation kommt dabei entweder 'spontan' oder aus verhältnismässig alltäglichen Anlässen vor. Die Innervation schwankt nicht nur von Zeit zu Zeit, sondern auch von Ort zu Ort."

10. Der Stoffaustausch durch die Kapillarwand.

Während die vorliegenden Abhandlungen sich bisher ausschliesslich mit der Anatomie und Physiologie der Kapillaren beschäftigt haben, geht K r o g h im Folgenden zu einer Beschreibung ihrer Funktion über; das ist: der Stoffaustausch. "Den Kapillaren selbst ist das Vermögen zuzuschreiben, den Stoffdurchtritt durch ihre Wände zu regulieren" sagt K r o g h und sucht nach kausalen Erklärungen, um ausfindig zu machen, welche Kräfte den Stoffaustausch bewirken und was zu leisten das Kapillarendothel imstande ist.

Um den Gasaustausch in den Geweben zu untersuchen, konstruierte K r o g h einen Apparat zur Messung der Diffusion für Sauerstoff in Geweben (d.i. die Zahl cem des Gases, die in 1 Min. über eine Strecke von 1μ und eine Fläche von 1 qcm diffundiert, wenn die Konzentrationsdifferenz dem Sauerstoffdruck von 1 Atm. entspricht.)

Es zeigte sich bei diesen Messungen, dass tierische Gewebe durchlässiger sind für Sauerstoff, aber sie bieten den Sauerstoffmolekülen grösseren Widerstand, als es Wasser oder Gelatine tut. Dies wird in der Diffusionskonstante für Sauerstoff ausgedrückt. Genaue Messungen ergaben, dass die Diffusion quantitativ ausreicht, um den Sauerstoffbedarf des Muskels bei schwerster Arbeit zu decken. D.h. dass die Sauerstoffdiffusion wahrscheinlich in allen Geweben ausreicht. Ebenso folgt, dass die in den Geweben gebildete Kohlensäure immer durch Diffusion in die Kapillaren ausgeschieden werden kann, da die Diffusionskonstante für Kohlensäure im Gewebe ca. 30 mal höher ist als für Sauerstoff. Der Sauerstoffverbrauch im ruhenden Muskel erwies sich als in gewissem Grade abhängig von der Sauerstoffzufuhr und vom Druckgefälle.

Gegenüber den verschiedenen Bemühungen, eine Sekretionsfähigkeit des Kapillarendothels nachzuweisen, (z.B. sog. Calciumsekretion aus dem Blut in die Milch der Kuh) entgegnete K r o g h, "dass es keine zuverlässigen Beweise dafür gibt, dass die Kapillaren einen hindernden oder fördernden Einfluss auf die Diffusionswanderung irgendwelcher Kristalloide durch das Endothel hindurch ausüben könnten." Der Durchtritt geschieht hierbei ebenfalls durch Diffusion und es zeigte sich, dass die relative Geschwindigkeit der Dialyse für das Kapil-

larendothel dieselbe ist wie für Gelatine. Die Undurchlässigkeit der Kapillarwand für Kolloide bildet die Grundlage für den Mechanismus zur Resorption isotonischer Kristalloidlösungen in den Kreislauf. In Verbindung mit dieser Frage der kapillaren Durchlässigkeit führte K r o g h Messungen durch über das, was er den "fraktionierten osmotischen Druck des Blutes" nannte. Er ging davon aus, dass die für den kolloidosmotischen Druck des Blutes verantwortlichen Teilchen sehr wohl verschiedene Grösse haben könnten, dass gewisse Kapillaren für Teilchen bis zu einer bestimmten Grösse durchlässig wären und dass der wirksame osmotische Druck in solchen Kapillaren daher niedriger sein könnte als in anderen weniger durchlässigen. K r o g h verwendete dazu einen Osmometer nach der Methode S o r e n s e n s mit Collodiumröhren, die durch einen verschiedenen Prozentgehalt an Äther und Alkohol in ihrer Durchlässigkeit abgestuft wurden. Es zeigten sich bemerkenswerte Unterschiede im osmotischen Druck der Kolloide beim Frosch, Kaninchen und beim Menschen. Dies erklärte K r o g h auf Grund seiner Befunde über den Blutdruck in den Kapillaren, von dem in erster Linie der Wasseraustausch zwischen Blut und Gewebsspalten abhängt. Aus den Messungen mit Hilfe des Osmometers konnte der durchschnittliche osmotische Druck berechnet werden, den 1 Prozent Protein im Blute ausübt. Beim Frosch ist dieser beträchtlich niedriger als bei den Säugetieren und ist bei allen Tierarten bemerkenswert inkonstant, sodass eine Berechnung des kolloidosmotischen Druckes aus einer Bestimmung des Bluteiweissgehaltes niemals quantitativ zuverlässige Resultate geben kann. K r o g h musste eine Vervollständigung dieser Messungen später aufgeben, da keine genügende Gleichheit der osmotischen Membran erzielt werden konnte. Es kann angenommen werden, dass Serum-Albumine aus kleineren Partikeln bestehen als die Globuline.

11. Kapillarer Blutdruck und Venendruck.

Wenn der Blutdruck in den Kapillaren grösser ist als der osmotische Druck, so tritt ausser dem osmotisch angezogenen Wasser ein Wasserüberschuss durch Filtration durch die Kapillarwand und es entsteht Oedem. Ist dagegen der Kapillardruck

kleiner als der osmotische Druck, so wird ein, etwa in den Gewebsspalten vorhandener Flüssigkeitsüberschuss resorbiert, wie es in den meisten normalen Geweben geschieht. Die Geschwindigkeit, mit der eine solche Resorption stattfindet, hängt ab von der Differenz zwischen osmotischem Druck und kapillarem Blutdruck. Die Bestimmungen des Kapillardruckes waren bis dahin nicht sehr zahlreich und recht widersprechend. K r o g h fand eine zuverlässige Methode heraus, mit Hilfe derer es möglich wurde, genaue Kapillardruckbestimmungen durchzuführen, (bestehend aus einer Glaskapillare, die mit einem Nivelliergefäss verbunden ist und mit der Spitze in das Lumen einer Kapillarschlinge eingebohrt wird.) Es zeigte sich als wesentlich für den Kapillardruck, wie gross der senkrechte Abstand des zur Messung gewählten Oberflächenpunktes von der Brusthöhle ist. Der Druck ist in Höhe des Schlüsselbeins konstant und sehr niedrig, unterhalb dieses Punktes nimmt er gleichmässig mit zunehmendem senkrechten Abstand zu. (Das Minimum des Kapillardruckes zeigte sich zwischen 4,5 und 7,5 cm Wasser und stieg maximal bis ca. 32 cm.)

Der Venendruck.

Die Tatsache, dass bei früheren Venendruckmessungen der Kapillardruck etwas hinter dem zu erwartenden hydrostatischen Druck der Blutsäule zurückbleibend gefunden wurde, veranlasste K r o g h zu Venendruckmessungen. Er führte diese Erscheinung auf leichte Muskelbewegungen im Bein zurück und bezeichnete das als "Venenpumpe". Dank den Klappen führt jede Kompression eines Venenabschnittes durch Muskelbewegungen zu einer wenigstens teilweise eintretenden Entleerung des Abschnittes in der Richtung zum Herzen hin, dadurch wird der Druck herabgesetzt und der Abschnitt füllt sich wieder von unten her. Beim Gehen wird auf diese Weise der Druck in den Venen des Fusses gewöhnlich auf Null herabgesetzt. Im Anschluss an diese Untersuchungen gibt K r o g h wertvolle Hinweise für die Entstehung des Filtrationsödems durch zu geringen kolloid-osmotischen Druck oder Versagen der Venenpumpe, wobei der Kapillardruck überwiegt und mit zunehmender Höhe des Herzniveaus auch der hydrostatische Druck. K r o g h weist darauf hin, dass bei den meisten grossen Tieren das

Herz die tiefmöglichste Lage im Brustraum einnimmt und dass nur Elefant und Giraffe das Herz in einer höheren Ebene haben als der Mensch. Die hier unvermeidbare Zunahme des hydrostatischen Druckes in den Kapillaren kann noch durch Zunahme des kolloidosmotischen Blutdruckes kompensiert werden.

Die These, dass normale Kapillaren nur für Kristalloide durchlässig sind und nicht für Blutkolloide, bedurfte noch einer Qualifikation. Im Lichte der Versuche über den fraktionierten osmotischen Druck untersuchte K r o g h die Durchlässigkeit verschiedener Kapillaren (Darmkapillaren, Leberkapillaren) für bestimmte Fraktionen der Bluteiweisse. Ausser den gefundenen Durchlässigkeitsunterschieden zwischen den Kapillaren verschiedener Organe zeigte sich, dass auch die Durchlässigkeit ein- und derselben Kapillargruppe schwankt und dass sie bei Erweiterung der Kapillare normalerweise gesteigert wird. Zahlreiche Versuche darüber (am Frosch) zeigten, dass mit zunehmender Erweiterung der Kapillaren eine allmählich eintretende Eindickung des Blutes und Zunahme des Lymphflusses eintrat und schliesslich eine Erweiterung über einen gewissen Punkt hinaus, sicherlich entsprechend einem Durchlässigkeitsgrad, der den osmotisch wirksamen Gummimolekülen das Verlassen der Gefässe gestattet, zu einer vollständigen Stase führt.

1920 durchgeführte Versuche über Kapillarerweiterung nach chemischer Reizung und deren Verhinderung durch Lokalanästhesie, zeigten, dass in diesem Falle die Durchlässigkeitssteigerung ebenfalls ausbleibt. So kam K r o g h zu dem Schluss, "dass keine Erweiterung der Kapillaren mit ihrer mechanischen Dehnung des Endothels stattfinden kann, ohne von einer Durchlässigkeitssteigerung begleitet zu sein, eine Steigerung, die im ganzen dem Grade der Erweiterung parallel geht und alle normalen Plasmakolloide rasch hinausfiltrieren lässt, wenn die Kapillaren stark erweitert sind."

Zur Messung der absoluten Kapillardurchlässigkeit benützte K r o g h Injektionen mit geeigneten Farbstoffen (Brillantvitalrot und Chicago blau) in die Blutbahn und beobachtete anschliessend die Kapillaren unter dem Mikroskop. In späteren Berichtigungen zeigte es sich aber (L a n d i s), dass die Moleküle der Farbstoffe nicht auf Grund ihrer Brown'schen Bewegung durch die Kapillarwand diffundierten, sondern dass sie durch den Filtrationsdruck des Wassers hindurchgingen.

Deshalb wurde hierbei nicht eigentlich die absolute Permeabilität gemessen, sondern die Filtration. Dagegen ist der Austausch der Kristalloide praktisch unabhängig von irgendeiner Wasserfiltration durch die Kapillarwand.

Der Parallelismus zwischen Erweiterung der Kapillaren und zunehmender Permeabilität ist jedoch kein vollständiger. Nachfolgende Arbeiten zeigten noch weitere Stimulanzien für eine Permeabilitätssteigerung.

Abschliessend geht K r o g h mit Hilfe der erworbenen Erkenntnisse zur Definition einiger Phänomene über:

12. Erklärung einiger Phänomene mit Hilfe der Ergebnisse experimenteller Arbeiten. (Nierenglomeruli)

Der negative Druck in der Brusthöhle z.B. wird ermöglicht, wie K r o g h annimmt, durch das Überwiegen des kolloid-osmotischen Druckes in den Kapillaren über denjenigen in der Pleurahöhle. Die Flüssigkeitsresorption bei einem Hydrothorax erklärte sich K r o g h auch auf diese Weise.

Über die Resorption gelöster Substanzen aus dem Dünndarm ins Blut kommt K r o g h auf Grund eigener Versuche und Hinzuziehung und Berichtigung der Erkenntnisse anderer Forscher zu der Annahme, dass die Verteilung der vom Darm resorbierten Substanzen durch Diffusion erklärbar wird. "Das Endothel der Darmkapillaren ist, wie das Kapillarendothel des übrigen Körpers einfach für Wasser und Kristalloide durchgängig und ferner, in diesem Sonderfall, für eine bestimmte Fraktion der Blutproteine. Wenn nun eine verhältnismässig starke Lösung von Zucker, Aminosäuren und Salzen aus dem Zottenepithel in die Pericapillarräume eintritt, so müssen die osmotisch wirksamen Stoffe von verhältnismässig geringer Dialysierbarkeit Wasser aus den Kapillaren anziehen. Zur selben Zeit treten dann natürlich die diffundierenden Stoffe durch die Kapillarwand in den Blutstrom ein und, da die Kapillaroberfläche sehr gross und ausserordentlich durchlässig ist, das Blut in den Kapillaren aber fortwährend erneuert wird, so lässt sich denken, dass ein vollständiges Gleichgewicht erreicht wird, so dass der Prozentgehalt der dialysablen Substanzen im Chylus derselbe ist wie in einer entsprechenden Probe aus dem Pfortaderblut. Ist zwischen den Kristalloiden

auf beiden Seiten des Endothels vollständiges Gleichgewicht hergestellt, so lässt sich denken, dass infolge des Unterschieds im kolloid-osmotischen Druck zwischen Blut und Chylus, das Wasser, das dem Blut durch die anfänglich konzentrierte Lösung entzogen worden ist, zum Teil wieder in die Kapillaren zurückresorbiert werden kann. Eine Rückresorption von Wasser ist nur bis zu dem Punkte denkbar, wo der Chylus die normale Eiweisskonzentration der Lymphe in nüchternem Zustand erreicht hat. Es darf also die Konzentration jeder einzelnen Substanz im Chylus niemals kleiner sein, als im Blut, während die Chylusmenge, die in der Zeiteinheit vom Darm wegfließt, mindestens etwas grösser sein muss als die entsprechende Lymphmenge, die vom leeren Darm abfließt.

Die Filtration von Kammerwasser in den Schlemm'schen Kanal und die dabei auftretende Frage nach dem Eiweissgehalt des Kammerwassers (da das Endothel für Eiweiss und sogar für chines. Fuscheteilchen durchlässig ist, wurde angenommen, dass auch in entgegengesetzter Richtung Diffusion stattfindet und somit das Kammerwasser Eiweiss enthalten muss,) beantwortet K r o g h dahingehend, dass die Endothelzellen selber undurchlässig sind, dass aber eine Anzahl äusserst feiner Interzellulardurchgänge vorhanden ist, in denen ein Filtrationsstrom fliesst, der schnell genug ist, um das Eintreten von Plasma aus dem Blut zu verhindern.

Zur Erklärung der Gefässreaktionen auf den Entzündungsreiz äusserst sich K r o g h dahingehend, dass die Gefässreaktion in ihrer Gesamtheit gewiss für den Organismus nutzbringend sei, dass aber einige von den Teilreaktionen oft schädlich sind, z.B. Stase und ödematöse Schwellung. Er weist darauf hin, dass die, durch Anästhesie und sympathische Nervendurchtrennung hervorgerufene Einschränkung der Gefässreaktion eine günstige Wirkung auf den Verlauf experimenteller Entzündungen gezeigt habe. Die Auswanderung von Leukozyten bezeichnet K r o g h als eine von der Gefässreaktion unabhängige Erscheinung, die die Bildung chemotaktisch wirksamer Stoffe im Gewebe anzeigt. Von einer Entzündungsbehandlung fordert K r o g h, dass sie die Reaktionen dort beschränkt, wo sie schädlich zu werden drohen und anregt, wo sie Nutzen bringen. Die Calciumtherapie läge in dieser Richtung.

Bei der Urticaria weist K r o g h auf die beträchtliche Permeabilitätssteigerung der Kapillarwand hin, die in den meisten Fällen mit einer Erweiterung der Kapillaren einhergeht, doch reicht diese Erweiterung in den beobachteten Fällen quantitativ nicht aus, um die Exsudation zu erklären. Die Urticaria factitia bezeichnet er als eine übermässig starke Reaktion der Rougetzellen auf mechanischen Druck.

Kreislaufschock.

Um dem Circulus vitiosus des Kreislaufschocks beizukommen, (bei Versagen des Kreislaufs leidet die Blutzufuhr zu den Geweben, was wiederum fixzig infolge von Sauerstoffmangel oder verminderter Zufuhr des tonisierenden Hormons zu stärkerer Erweiterung führt, die durch Permeabilitätssteigerung Plasmaverlust zur Folge hat,) förderte K r o g h die Gewinnung einer 6%igen Gummilösung, in physiolog. NaCl gelöst, die nahezu denselben kolloid-osmotischen Druck hat wie das menschliche Blut, während ihre Viskosität ein wenig höher ist, so dass sie als Blutersatz Anwendung finden konnte. Wie K r o g h fand, entspricht die Dialysierbarkeit von Gummiteilchen durch Kolloidmembranen fast genau der Fraktion der Bluteiweisskörper, die am wenigsten diffundieren, sodass das Gummi wahrscheinlich noch in Kapillaren zurückgehalten wird, die grösstenteils schon für die normalen Plasmakolloide durchlässig geworden sind. Daneben weist K r o g h auf das Pituitrin in Behandlung des Kreislaufschocks, durch seine Anregung des Kapillartonus.

Innerhalb der Erscheinungsformen des Oedems traf K r o g h eine bestimmte Unterscheidung zwischen jenen Formen von Oedem, die mehr oder weniger vom Zustand der Kapillaren und von den Druckverhältnissen abhängig sind und jenen Formen, wo das nicht der Fall ist, zu denen alle intracellulären Oedeme gehören, bei denen die Schwellung der Gewebselemente selber Ursache ist. Beim intercellulären Oedem hängt die Exsudation und evt. Rückresorption dagegen ab vom kapillaren Blutdruck, vom kolloidosmotischen Druck des Blutes, von der Durchlässigkeit der Kapillarwand, von der Leistungsfähigkeit des Lymphflusses und von der Stoffwechsellätigkeit der Gewebzellen. K r o g h experimentierte Filtrationsödeme durch Zunahme des hydrostatischen Druckes in den Venen beim herabhängenden Bein.

Er erklärte erstmalig neben den bekannten Formen des Oedems, bei denen die Transsudation durch abnorm hohen hydrostatischen Druck in den Kapillaren zustande kommt, während der wirksame osmotische Druck entweder normal ist oder sich sekundär vermindert, jenes Oedem, das durch primäre Verminderung des kolloidosmotischen Druckes im Blut entsteht. Beispiele dafür wurden angeführt, u.a. Oedeme bei Albuminurie. Es zeigte sich eine Relation zwischen der Proteinkonzentration des Urins und dem spezif. osmotischen Druck der Proteine, der umso grösser ist, je niedriger die Konzentration. Dabei erwiesen sich die Glomeruli als effektive Ultrafilter, die für eine sehr aktive Proteinfraktion durchlässig werden können. Über den Ursprung des ca. 0,1%igen Eiweissgehaltes im Filtrationsödem durch normale Kapillaren konnte K r o g h nichts bestimmtes aussagen. Er lehnte deshalb eine scharfe Trennung zwischen reinem Filtrationsödem und Oedem durch gesteigerte Permeabilität der Kapillarwand auf Grund einer Schädigung ab. Mit Ausnahme der Kapillaren in den Glomeruli und den Kapillaren im Mesenterium des Frosches (nach L a n d i s) war keine selektive Permeabilität geschädigter Kapillaren zu beweisen.

Ein Exsudat, das Protein enthält, kann nicht vollständig zurückresorbiert werden. Solange die Kapillardurchlässigkeit zunimmt, besteht die Transsudation fort und wenn die Kapillaren wieder normal werden, sind sie undurchlässig für das Protein des Transsudates, dessen osmotischer Druck ebenso die Rückresorption von Wasser und Kristalloiden verhindert. Es gibt jedoch zwei verschiedene Mechanismen für die Resorption proteinhaltiger Oedemflüssigkeit: die eine geht auf dem Lymphwege vor sich, die andere auf dem Wege enzymatischer Umwandlung (1921 von L a n d s b e r g beschrieben) z.B. direkte Rückresorption der Spaltprodukte bei Pleuritis exsudativa ins Blut.

Im Zusammenhang mit der Kapillarforschung haben K r o g h und seine Mitarbeiter V i m t r u p und R e h b e r g wesentliche Erkenntnisse über die Nierenglomeruli gewonnen, von denen hier kurz berichtet werden soll. Man ging bei den Untersuchungen von der Voraussetzung aus, dass der Harn durch einen Filtrationsprozess in den Glomeruli gebildet wird, dass die Kapillaren der Glomeruli durchlässig für Kristalloide und undurchlässig für Kolloidproteine sind und

dass das Filtrat durch eine selektive Rückresorption (z.B. Glukose und Wasser) in den Tubuli modifiziert wird und der konzentrierte Harn durch Diffusion ins Blut zurücktritt.

R e h b e r g fand nun das Kreatinin als einen normalen Bestandteil des Harnfiltrates, der nicht rückresorbiert wird oder zurückdiffundiert.

Durch Vergleiche der Kreatinin-Konzentration in Urin und Blut konnte die rückresorbierte Wassermenge festgestellt werden. Aus diesen Bestimmungen liess sich errechnen, dass die 2 Millionen Glomeruli einer menschlichen Niere maximal 200 ccm Filtrat pro. Min. produzieren, wovon schliesslich 180 bis 199 ccm rückresorbiert werden während der Passage durch die Tubuli. Mit Hilfe der Oberflächenberechnung V i m t r u p s für die gesamten Glomeruli (15 000 ccm) und den Bestimmungen L a n d i s über Kapillarfiltration konnten Testversuche durchgeführt werden. Der dabei angenommene Filtrationsdruck ist der Blutdruck in den Glomeruli minus kolloidosmotischem Druck. Über die genaue Höhe des Blutdrucks in den Glomeruli konnten keine definitiven Angaben gemacht werden, er ist jedoch sehr hoch. Der Filtrationsdruck betrug mindestens $1/20$ Atm. (= 500 mm Wasser) und höchstens $1/10$ Atm. (=1000 mm Wasser). Vergleiche zwischen der Permeabilität der Glomeruluskapillaren und der Kapillaren im Mesenterium des Frosches ergaben eine Filtration von 25-50 ccm pro Min. beim Frosch und bei gesteigerter Permeabilität, die eben gerade noch die Proteine zurückhält eine Filtration von 65 - 130 ccm pro Min. was R e h b e r g s Versuchen nahekommt.

13. Beschreibung einiger Apparate und angewandten Untersuchungsmethoden.

Im Anhang dieser Veröffentlichung gibt K r o g h einen Überblick über die von ihm angewandten und gefundenen Methoden zur Untersuchung der Kapillartätigkeit.

1924 beschrieben K r o g h und R e h b e r g eine kinematographische Methode. Die Beobachtungen an lebendem Gewebe machte K r o g h in durchfallendem Licht. Zur Darstellung der anatomischen Verhältnisse des Kapillarsystems wurde eine Mischung von Gelatine mit flüssiger Indiantinte injiziert. Damit wurde direkte Messung im histologischen Schnitt möglich.

Zum Studium der Kapillardilatation und -konstriktion führte K r o g h Vitalinjektionen mit Indian-Tinte durch, die das Gewebe einer direkten Beobachtung zugänglich machten. Zur histologischen Darstellung der Endothelzellen der Kapillarwand wurden Injektionen mit Silberlösung angewendet. Supravitalfärbung mit Methylenblau und selektive Myofibrillenfärbung mit Janusgrün B nach Auswaschen mit Ringerlösung nach V i m t r u p. Kapillarnerven können vital oder supravital mit Methylenblau injiziert oder infiltriert werden.

Zur Untersuchung capillarer Reizwirkung verwendete K r o g h verschiedene Stimulantia. So z.B. konstruierte er einen Apparat für die Einwirkung von Gasen auf Kapillaren, zur Beobachtung unter dem Mikroskop. Flüssige Reagentien wurden mittels Reaktionsbecken in verschiedener Grösse auf das zu untersuchende Gewebe gebracht. Der im Kapitel 9 beschriebene Apparat K r o g h s zu rhythmischer Durchspülung wurde 1927 von D r i n k e r noch erweitert zur Messung der Durchspülmengemenge und zur Erzielung eines raschen Wechsels von einer Lösung zur anderen. Zu Durchspülmengenzwecken benutzte K r o g h solche Lösungen, die den Erfordernissen der Erhaltung eines normalen kolloid-osmotischen Druckes entsprachen und entsprechend ionisiert waren, wie z.B. Akaziengummilösung. Hinzugefügt wurden rote Blutkörperchen zur Gewährleistung der Sauerstoffversorgung. Diesen Lösungen konnte jeweils noch ein Farbmittel beigelegt werden.

1919 konstruierte K r o g h einen Apparat zur Messung der Diffusion durch Gewebsmembranen, der im Prinzip aus zwei Metallkammern besteht, zwischen die das zu untersuchende Gewebe als Trennungswand eingeschoben wird. Mit Hilfe dieses Apparates konnte die Diffusionskonstante für Sauerstoff bestimmt werden.

Der oben erwähnte Apparat zur Bestimmung des kolloid-osmotischen Druckes und des fraktionierten kolloid-osmotischen Druckes wurde 1927 von K r o g h und N a k a z a w a für klinische Zwecke ergänzt (s.Kapitel 10).

Zur Bestimmung des Kapillar- und Venendruckes hat K r o g h verschiedene Methoden angewendet und verbesserte Methoden gefunden. Wie schon beschrieben, unternahm K r o g h Kapillardruckmessungen in direkter Methode mittels einer Glaspipette, die in das Lumen einer Kapillarschlinge eingestochen wird und die mit einem Manometer in Verbindung ist. In einigen Fällen verwendete K r o g h die Kapillarpulsation zu Druckmessungen.

III. Studien über Insulin.

1. Seine Entdeckung und ihre Bedeutung.

(En Opdagelse og dens Betydning.

Univ. Progr. København)

Wie schon einleitend erwähnt wurde, beschäftigte sich K r o g h während seines Aufenthaltes in Amerika 1922 mit dem damals erstmalig durchgeführten Insulinisolierung. Im vorliegenden Bericht K r o g h s gibt er eine Übersicht über die Entstehungsgeschichte des Insulins und über die von ihm durchgeführte Insulinherstellung in Dänemark und dessen Verbreitung in den nordischen Ländern. Auf die von K r o g h eingehend geschilderte und allgemein bekannt gewordene Entstehungsgeschichte des Insulins soll hier nicht eingegangen werden. Dagegen sollen die Bemühungen K r o g h s um eine bessere Insulinbestimmung und die Herstellung eines neuen Standardpräparates Erwähnung finden.

Im November 1922 ~~1923~~ fuhr K r o g h nach Toronto, dem Entstehungsort des Insulins, wo er mit Prof. Macleod übereinkam, dass er auf Grund der dort gesammelten Erfahrungen versuchen sollte in Dänemark Insulin herzustellen. Mit Hilfe von privaten Freunden erreichte K r o g h die Errichtung eines Insulinlaboratoriums in Dänemark. Es lag in seiner Absicht, auf staatliche Hilfe nicht angewiesen zu sein, da er Zeit sparen wollte und das Insulin für a l l e skandinavischen Länder und so billig wie möglich herstellen wollte.

Zum Zwecke der Insulinbestimmung versuchte K r o g h an Stelle von Kaninchen Mäuse anzuwenden. Seine Versuche zeigten, dass Mäuse, die in hoher Temperatur gehalten wurden, nach einer subcutanen Insulinsinspritzung charakteristische Symptome aufwiesen, die in einem bestimmten Verhältnis zur Stärke und zur Menge der injizierten Insulinlösung standen. Eine genauere Beschreibung dieser Versuche einer Insulinbestimmung soll an Hand der 1928 veröffentlichten Untersuchungen: "The assay of Insulin on rabbits and mice" gegeben werden. Dieser Initiative K r o g h s ist es zu verdanken, dass die skandinavischen Länder bald nach der Entdeckung des Insulins ein Standardpräparat erhielten, dass allgemeine Anwendung fand.

2. Insulinversuche an Kaninchen und Mäusen.

(The assay of insulin on rabbits and mice.

A. K r o g h - Am.M. H e m m i n g s e n.

Det.Kgl.Danske Videnskabernes Selskab.

Biologiske Meddelelser VII,6. 1928)

Der bestehende Mangel an Kenntnis über die Bestimmung der Stärke eines Präparates vom aktiven Prinzip des Insulins in Begriffen einer chemischen Reaktion, veranlasste K r o g h, eine biologische Methode mit deutlichen Symptomen im Verlauf der Insulinverabfolgung als Indikator auszuwählen. Die Beobachtung, dass Insulin einen Fall des Blutzuckers bei normalen Tieren verursacht und dass Kollaps und Konvulsion eintreten, wenn der Blutzucker bis zu einem bestimmten Niveau gesunken ist, hat zur Entwicklung des **B l u t z u c k e r t e s t e s** und des **K o n v u l s i o n s t e s t e s** geführt. Diese Kriterien stellen das Mittel dar, eine Einheit der Stärke in den Begriffen einer animalischen Reaktion zu bestimmen. Der BZT ist besonders geeignet durch den Parallelismus zwischen dem Grad der Hypoglykämie bei Tieren und dem therapeutischen Effekt beim Diabetiker, andererseits wurde der KT befürwortet, wegen der offensichtlichen Einfachheit, Konvulsionen als Indikator zu benützen. Der Nachteil besteht in den beachtlichen Schwankungen in der Empfindsamkeit der Tiere, weshalb die internationale Einheit in dem Begriff eines exakten Gewichtes eines Standardpräparates bestimmt wurde.

K r o g h besitzte beide Methoden und legte besonderen Wert auf den Vergleich der Resultate. In der Ausarbeitung der Methoden suchte er den Schwierigkeiten in der Variabilität der Empfindsamkeit verschiedener Tiere der gleichen Gattung, sowie in den plötzlichen Schwankungen in der Durchschnittsensibilität, die einen ganzen Stamm befallen können, möglichst zu begegnen. Die beiden beschriebenen Methoden kommen dem Zweck am nächsten.

Kaninchen-Blutzuckertest:

Der, mit geringen Änderungen nach der Methode von M a r k s ausgearbeitete Test besteht darin, dass die hypoglykämische Wirkung des Insulins innerhalb gewisser Grenzen proportional zur verabfolgten Dosis ist, wenn über eine Dauer von 5 Stunden nach Verabfolgung der Injektion der mittlere Fall des Blut-

zuckers gemessen wird. Die wesentliche Änderung ist die Verwendung des ersten und letzten Wertes der Blutzuckergrundlinie, anstatt nur des Anfangswertes wie bei M a r k s.

Zur Verwendung kamen Kaninchen von ca. 2 kg Gewicht, die mit Haferflocken und Runkelrüben gefüttert wurden und vor jedem Experiment 24 Stunden hungerten. Die angewandten Insulindosen enthielten 2,5 E per ccm. und die gegebenen s.c.Dosen betragen 0,2 ccm pro kg Körpergewicht, ($1/2$ E pro kg.KG). Zum Zweck des Vergleichs zweier Insulin-Präparate wurde jedes Präparat in äquivalenten Dosen einer Gruppe von 5 Kaninchen injiziert. Nach einem Intervall von 2 oder 3 Tagen wurde das Experiment wiederholt unter Umkehrung der Gruppen. Die Anzahl der verwendeten Tiere schien zu genügen, um denselben Durchschnittswert der Sensibilität einer Gruppe während einer Versuchsperiode zu gewährleisten. Durch die Umkehrung wurde angestrebt, die Differenz der Sensibilität der beiden Gruppen zu eliminieren. Wenn die durchschnittliche Sensibilität der Gruppe während einer Versuchsperiode Schwankungen zeigte, so ergriffen diese in der Hauptsache den ganzen Stamm gleicherweise und wurden bei der Umkehrung zwangsläufig eliminiert.

Wenn sich die Sensibilität auf verschiedene Weise in den beiden Gruppen änderte, konnten Irrtümer dadurch behoben werden, dass die Bestimmungen wiederholt wurden.

Für die Bestimmung des Blutzuckerwertes wurde das Verfahren nach H a g e d o r n - J e n s e n angewandt.

Eine Blutprobe zur Bestimmung des normalen Nüchtern-Blutzuckers wurde $1/2$ Std. vor der Injektion entnommen und weitere Proben alle folgenden Stunden, bis zu 6 Proben. Zum Zeitpunkt der letzten Blutentnahme war der Blutzucker auf sein normales Niveau zurückgekehrt und der Durchschnittswert der ersten und letzten Probe wurde als Normal-Blutzucker betrachtet. Die Differenz zwischen diesem Durchschnittswert und dem Durchschnittswert der anderen 4 Proben wurde als die Wirkung der injizierten Dosis betrachtet.

Die Wirkung jedes Präparats wurde nach der durchschnittlichen Wirkung auf jedes der 5 Kaninchen bewertet. Das Verhältnis der Wirkungen zweier Präparate wurde in Zahlenwerten ausgedrückt. Als Prüfung der Methode wurde eine Serie von Vergleichen aufgestellt zwischen verschiedenen Versuchen mit demselben Präparat. Die Summen der Resultate wurden in Tabellenform auf-

gestellt, aus denen ersichtlich ist, dass selbst dann verlässliche Resultate erzielt wurden, wenn die Dosis der beiden unter Vergleich stehenden Präparate beträchtlich differiert. Da bei anderen Kaninchenstämmen das Verhältnis von Dosis zu Wirkung weniger exakt sein mag, empfiehlt K r o g h, die Dosen annähernd äquivalent zu machen und $3/4$ E pro kg. Gewicht nicht zu überschreiten, weil bei grösseren Dosen die Wirkung nicht mehr länger proportional zur Dosis bleibt.

Über serienweise Vergleichsexperimente mit verschiedenen Kaninchengruppen, die die gleichen Resultate zeitigten, veröffentlichte K r o g h genaue Tabellen. Mit Hilfe der Differenz zwischen zwei Schätzungen konnte der Hauptirrtum einer einzelnen Schätzung behoben werden auf Grund der Formel:

$$\mu = \sqrt{\frac{\Delta \Delta}{2S}} \text{ wobei } \Delta \text{ die Differenz zwischen zwei Schätzungen}$$

ist, S die Zahl der Differenz. Dabei errechnete sich als Hauptirrtum 0,099. Im Falle weitgehender Divergenzen bestanden unbestimmbare Veränderlichkeiten in der Sensibilität zweier Kaninchengruppen, die für eine oder beide Bestimmungen benutzt wurden.

Als vollständiger Versuch galt die methodische Durchführung zweier Durchschnittsschätzungen, wozu 4 Experimentiertage erforderlich sind.

Mäuse-Konvulsionstest:

Der hier beschriebene Mäusetest wurde schon an anderer Stelle von K r o g h veröffentlicht.

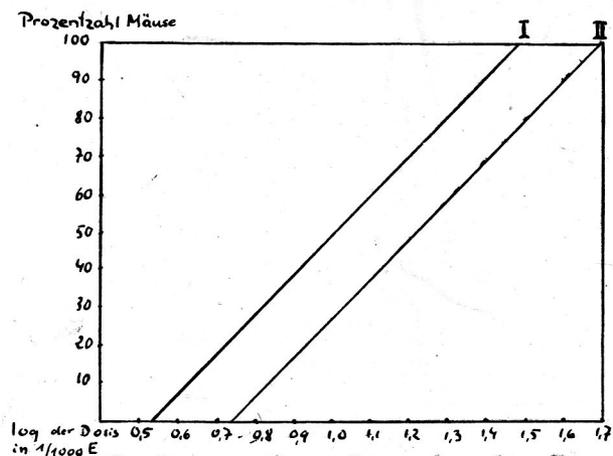
Die zur Verwendung gelangenden Mäuse werden mit einer Standard-Diät gefüttert und hungern $1\ 1/2$ Stunden vor dem Test. Ohne Rücksicht auf das Gewicht wird jeder Maus vor dem Test $1/4$ ccm einer geeigneten Insulinlösung s.c. injiziert. Die Mäuse werden dann in einem Brutapparat mit gleichmässiger Temperatur gehalten - 30° erschien als geeignet, um die Konvulsionen in Erscheinung treten zu lassen, ohne auf die Mäuse direkt eine sichtbare Wirkung auszuüben.

Wurden die Mäuse von der Insulinwirkung ergriffen, sassen sie mit gekrümmtem Rücken still und liessen den Kopf hängen. Die Beine und besonders die Hinterbeine wurden langsam paralytisch, sie glitten auf dem glatten Boden des Behälters aus und verweilten längere Zeit in unnatürlichen Stellungen. In diesem

Stadium waren die Augen gewöhnlich weit offen und ein gewisser Exophthalmus zeigte sich als häufiges Symptom. In einem zweiten Stadium wurde der Exophthalmus deutlicher, mit nahezu vollständig gelähmten Hinterbeinen lagen die Mäuse auf dem Bauch ausgestreckt, den Schwanz mehr oder weniger vertikal gestreckt. Dieses Stadium geht gewöhnlich, nach einigen Remissionen, direkt in das Kollapsstadium über, in dem die Maus bewegungslos auf dem Bauch oder auf der Seite liegt und unfähig ist, sich zu erheben, wenn man sie auf den Rücken legt. Meistens wird der Kollaps in Abständen oder nach Provokation von heftigen Konvulsionen unterbrochen. Zu diesem Zeitpunkt wurde 1/2 ccm einer 10%igen Glukoselösung s.c. injiziert. Bei dieser Behandlung gingen wenig Mäuse ein und dieselben Tiere konnten an 3 Tagen pro Woche über eine Zeit von 1-2 Monaten verwendet werden.

Dieser Versuch wurde serienweise durchgeführt. In jedem Test wurden 160 Mäuse verwendet, mit einem Gewichtsunterschied von 4 gr. Die eine Hälfte der Mäuse wurde mit verschiedenen Dosen eines Standardpräparates injiziert, während die andere Hälfte der Anzahl eine Dosis erhielt, die auf gleiche Stärke geschätzt wurde, wie die unter Versuch stehende Substanz. Diese Versuche wurden so lange wiederholt, bis die für notwendig erachtete Genauigkeit erreicht war. Mäuse, die unzweifelhafte Symptome zeigten, wurden in jedem Test notiert. Die meisten davon erreichten das Kollaps- oder Konvulsionsstadium.

Die Prozentzahl Mäuse, die bei jeder angewandten Insulinkonzentration unzweifelhafte Symptome zeigten, ergeben bei graphischer Darstellung - wobei der Logarithmus der Dosis als Abszisse und die Prozentzahl an Mäusen als Ordinate dargestellt wird - eine lineare Relation.



I Kurve des Standardpräparates

II Unbekanntes Präparat, angenommen als 20 E/mg

War die Annahme bezüglich der Wirkung des unter Versuch stehenden Präparates korrekt, müssen beide gerade Linien identisch sein. In dem hier gegebenen Beispiel wurde ein Fall angenommen, (20 E per mg) der weit davon entfernt ist, in der Wirkung identisch zu sein. Zwischen den angenommenen Dosen für das unbekannte Präparat und jenen, die den Prozentsatz affizierter Mäuse in der Standardlinie angeben, ist ein konstantes Verhältnis zu erwarten, das in konstanter Logarithmendifferenz dargestellt wird. Beide Linien müssen deshalb parallel sein.

Die horizontale Entfernung zwischen den beiden geraden Linien ist $\log x = 0,175$ und man erhält durch Subtrahieren die Stärke des unbekanntes Präparats: $\log 20 - \log x = 1,301 - 0,176 = 1,125$

$$\text{Antilog. } 1,125 = \underline{13,34 \text{ E per mg.}}$$

Der Hauptirrtum dieses Resultates kann auf dem gewöhnlichen Weg ausgeschaltet werden, indem die horizontale Distanz von der korrespondierenden Linie in jedem Punkt gemessen wird. Wenn der Hauptfehler auf der Standardlinie ε ist und auf der Linie des unter Versuch stehenden Präparates ε_1 , dann ist der Hauptirrtum $e = \sqrt{\varepsilon^2 + \varepsilon_1^2}$. In dem zur Discussion stehenden Fall ist $\varepsilon = 0,006$, $\varepsilon_1 = 0,014$ und $e = 0,015$. Diese Zahl ist ein Logarithmus. D. i. : für die Anzahl Einheiten des unbekanntes Präparates:

$$\text{Antilog. } 1,125 \pm 0,015 = 13,34 \pm 0,46$$

d. h. eine Hauptabweichung von $\pm 3,5$.

Anstatt die hier beschriebene graphische Methode zu benutzen, schlägt K r o g h auch eine arithmetische Methode vor, zur Vergleichsbestimmung der parallelen Linien und ihrer horizontalen Entfernungen.

Tritt während einer Bestimmung dieser Art ein Wechsel in der Sensibilität des ganzen Mäusestocks auf, dann muss der einzelne Test separat und in einer Form, die der hier beschriebenen ähnlich ist, durchgeführt werden, wobei der Durchschnitt der einzelnen Bestimmungen zur Berechnung kommt. Der Hauptirrtum eines einzelnen Testes lag durchschnittlich in der Höhe von 12%, variierte aber entsprechend der Dispersion der Sensibilität, was graphisch durch die Inklination der geraden Linie ausgedrückt wird. Wenn der Hauptirrtum μ der einzelnen Bestimmungen variiert, muss das in der Berechnung des Durchschnitts mit in

Betracht gezogen werden, indem man den Bestimmungen ein Gewicht p proportional zu $\frac{1}{\mu^2}$ gibt.

Weiterhin muss der Hauptirrtum des Durchschnitts aus der Formel berechnet werden:

$$\frac{1}{\sqrt{\left[\frac{1}{\mu^2}\right]}} \quad \text{oder} \quad \sqrt{\frac{[p \cdot d^2]}{[p](n-1)}}$$

wobei d die Abweichung der einzelnen Bestimmungen vom Durchschnitt ist. Der aus diesen beiden Formeln berechnete Hauptirrtum kann im besonderen Fall differieren, aber aus Vergleichen einer grossen Anzahl von Bestimmungen ist ersichtlich, dass sie durchschnittlich identisch sind.

Die Demonstration, dass die Beziehungen der Häufigkeit der einzelnen Symptome zur injizierten Dosis praktisch logarithmisch ist, entspricht nahezu den von *V o e g t l i n* bei Ratten aufgestellten Kurven über die tödliche Dosis, die das Doppelte der hier gegebenen Dosis darstellt. Im Vergleich zu den von *T r e v a n* und *B o o c k* aufgestellten Kurven über Konvulsionsdosen bei Mäusen zeigen sich einige Unterschiede. Nach der Ansicht *K r o g h s* sind die Regionen der Ordinate in der Nähe von 0 und 100 % für eine mathematische Behandlung weniger geeignet und wurden dementsprechend in seinen Kurven fortgelassen. Die Behauptung von *T r e v a n* und *B o o c k*, dass die Neigung der Konvulsionsdosiskurve eine konstante sei, ohne Rücksicht auf die Variationen in der Durchschnitts-Sensibilität der Mäuse, wurde in den Untersuchungen *K r o g h s* nicht bestätigt. Die sehr flache Kurve von 29°, die von *T r e v a n* und *B o o c k* veröffentlicht wurde, fand sich bei den Experimenten *K r o g h s* nur in Fällen von sehr grosser Dispersion.

Nach *L a q u e u r* und *G r e v e n s t u k* hängt das Auftreten von Konvulsionen bei Kaninchen nicht nur von der Insulin-Konzentration ab, sondern von der Reinheit der Präparate, in dem Sinne, dass unreine Präparate zwar die gleiche Herabsetzung des Blutzuckers bewirken, aber mehr dazu neigen, Konvulsionen hervorzurufen.

Diese Abhängigkeit erscheint *K r o g h* auch bei Mäusen denkbar und ist, seiner Meinung nach, die Quelle schwerer systematischer & Fehler, indem man die reinsten Präparate im Hinblick auf ihren therapeutischen Effekt zu stark macht.

Abschliessend stellt K r o g h einen Vergleich der Methoden auf:

1. Ein Präparat, das auf dem Wege des Mäusetests mit dem internationalen Standardpräparat verglichen und in Übereinstimmung gebracht wurde, mit einem Durchschnittsirrtum von $\pm 5\%$, wurde ebenso in 5 Kaninchenexperimenten mit dem Standardpräparat verglichen, hier mit einem Durchschnittsirrtum von $\pm 3,5\%$.
 2. Ein reines Präparat wurde mit dem entsprechenden konzentrierten Extrakt vor der endgültigen Reinigung verglichen, mit dem Ergebnis, dass die Blutzuckermethode bei Kaninchen dieselbe relative Wirksamkeit des Extraktes zeigte, wie der reine Puder bei der Mausmethode.
 3. Vergleich eines primären Drüsenextraktes mit dem konzentrierten und gereinigten Extrakt. Dabei zeigte der konzentrierte Extrakt - eine Fraktion des ungereinigten primären - eine geringfügig höhere relative Konzentration, gemessen im Blutzuckertest und Konvulsionstest. Die Differenz lag noch innerhalb der Grenzen eines Bestimmungsirrtums.
- Auf Grund der Vergleichsmethode konnte K r o g h feststellen, dass bezüglich der Reinheit keine systematische Differenz zwischen beiden Methoden besteht.

3. Insulinherstellung.

Zur Insulinherstellung selbst, wie sie unter der Anleitung K r o g h s im neuerrichteten Insulin-Laboratorium in Dänemark entwickelt wurde, soll in diesem Zusammenhang nur erwähnt werden, dass K r o g h zunächst versucht hatte, auf Grund der Vorschläge, die ihm in Toronto gemacht wurden, das Insulin aus dem Pankreas von Haifischen und Rochen zu gewinnen. Im weiteren Verlauf dieser Bemühungen musste man sich jedoch wieder auf die Insulingewinnung aus dem Pankreas von Säugetieren beschränken, da der Fischfang sich als zu unregelmässig und selten erwies, um für eine Insulingewinnung in Frage zu kommen.

Das Herstellungsverfahren wurde zunächst nach den Angaben von C o l b i p gehandhabt, der vorschlug, einen alkoholischen Auszug aus dem fein zerstückelten Pankreasgewebe zu machen, dessen Insulingehalt an Mäusen getestet werden kann. Da mit dieser Methode die Insulinausbeute nur gering war, bemühte sich K r o g h um eine Verbesserung des Herstellungsverfahrens

Vollen Erfolg hatte er erst, als er die 1923 ausgearbeitete Methode von S h a f f e r s anwandte, die eine Modifizierung der Methode C o l l i p s darstellt. (Extraktion mit Alkohol, der mit Schwefelsäure angesäuert ist. Ausfällung des Insulins aus dem konzentrierten Extrakt mit Ammoniumsulfat. Regulierung der Wasserstoffionenkonzentration des starken Alkohols mit der Ausfällung des Insulins bis zu dessen isoelektrischem Punkt.)

Diese Herstellungsmethode zeigte wesentlich bessere Resultate, sowohl was die Reinheit anbetraf, als auch den Gehalt an Insulin, der in den Rohextrakten von ca. 0,05 bis ca. 0,25 E anstieg. Im wesentlichen arbeitete K r o g h weiterhin mit dieser Methode, konnte sie aber in Einzelheiten im Laufe der Zeit noch verbessern. Im Verlaufe der Herstellung zeigte es sich, dass die Insulinmenge abnahm; eine Tatsache, die, wie sich zeigte, nicht auf die Herstellungsmethode zurückzuführen war, sondern durch die Anwesenheit von aktivem Trypsin zustande kam. Mit Hilfe besonderer Vorsicht bei der Herausnahme und der Abkühlung der Pankreasdrüse konnte diese Schwierigkeit überwunden werden, besonders, als K r o g h dazu überging, ausschliesslich das Pankreas von Schweinen zu verwenden.

Da Dänemark viel Schweinefleisch exportiert und zahlreiche industriell hochentwickelte Schweineschlachtereien besitzt, bildete dies für eine Insulingewinnung eine einzigartige Grundlage. An bestimmten Tagen werden jeweils eine Anzahl Tiere geschlachtet, die im Hinblick auf Alter und Entwicklung fast völlig gleichartig sind. Alle Tiere werden nach ihrer Eröffnung vom Tierarzt untersucht, dem ein besonders ausgebildeter Mann beigegeben ist, der das Pankreas auf rechte Art und Weise entfernt. Die herausgenommenen Drüsen werden sofort gekühlt und in besonderen Transporteinern, in denen sie in gefrorenem Zustand gehalten werden können, in die Insulinfabrik transportiert.

Da K r o g h zunächst keine Lösungen herstellen konnte, die mit Sicherheit haltbar gewesen wären, liess er Tabletten mit einem biologisch konstanten Insulingehalt herstellen, die in dieser trockenen Form unbegrenzt haltbar sind. 1924 gelang es dann, auch haltbare Insulin-Lösungen herzustellen.

IV. Studien über einen neuen Sammelapparat
zur Untersuchung der Micro-Fauna des
Meeresbodens.

Mit Bemerkungen über die Quantität und über die Bedeutung der benthonischen Mikro-Fauna.

("On a new Gottom sampler")

A. K r o g h and R. S p a r e k.

K.danske videnskabernes Selskab, Biolog.Medd.XIII,1936)

Während die Macro-Fauna schon verschiedentlich Gegenstand der Untersuchung war (Petersen, C.G. Johannsen), bestand bis zu dieser Zeit nur eine geringe Kenntnis über die quantitative Zusammensetzung der Micro-Fauna des Meeresbodens. Dieses beruhte sicher auf dem Fehlen eines geeigneten Apparates.

M o r t e n s e n beschrieb 1925 einen Apparat, der jedoch über die Quantität der Micro-Fauna nichts zu ermitteln vermochte. 1935 konstruierte K r o g h einen Apparat, der, auf dem Meeresboden angelangt, bis in eine Tiefe von 10-15 cm eindrang. Die, in dem so gewonnenen Material enthaltenen Meeres-tiere, konnten bei Zimmertemperatur einige Stunden am Leben gehalten werden, jedoch sollten sie möglichst in einem Refri-gator von 2-4° aufbewahrt werden. K r o g h fand, dass bei weitem der grösste Teil der Micro-Fauna sich in den oberen Schichten des Meeresbodens befindet.

Während mehrerer Jahre hatte K r o g h diesen Apparat ver-schiedentlich angewandt, an mehreren Orten der dänischen Ge-wässer. Die günstigsten Proben erhielt er meist dort, wo der Boden aus Lehm und Ton bestand. In den Jahren 1935-36 führte K r o g h eine Reihenuntersuchung dieser Art an mehreren Stel-len im Sund durch. Speziell untersuchte Orte sind das äussere tiefe Becken des Kopenhagener Hafens, wo die Proben in einer Tiefe von 5,5 m genommen wurden und eine Stelle im Sund, etwas nordwestlich von Mittelgrunden, wo die Proben in 17 m Tiefe entnommen wurden. Nebenbei wurden im Sund auch Proben aus grössester Tiefe (max. 56 m) entnommen. Das gewonnene Material wurde von K r o g h einer genauen Gewichtsbestimmung unter-zogen, indem er die Tiere im Zustand alkoholischer Präservation und nach Trocknen mit Filterpapier wiegen liess. Zu dem so ge-fundenen Gewicht zählte er 10% hinzu und betrachtete dieses nunmehr bestimmte Gewicht als das der lebenden Tiere. (Auf Grund von Erfahrungen des biologischen Institutes, Kopenhagen).

In diesem Gewicht sind Mollusken, Foraminiferen und Muscheln eingeschlossen. Mit Hilfe des sechstubigen K r o g h 'schen Apparates konnte ein ziemlich grosses Material auch der selteneren Tiergruppen, die nur durch ein oder zwei Species in jeder Tube vertreten waren, gewonnen werden. Trotz der ziemlich geringen Proben dieser präliminarischen Untersuchungen wurde es evident, dass sich die Micro-Fauna des Meeresgrundes aus 50.000 bis ungefähr 200.000 Lebewesen per qm zusammensetzt, wie K r o g h in vielen Tabellen aufzeigte. Zahlenmässig ist die Micro-Fauna bei weitem grösser als die Macro-Fauna. Ihr Gewicht, das dabei von einiger Bedeutung ist, variiert zwischen 11 und 90 gr im qm. K r o g h machte die Erfahrung, dass das Gewicht der Micro-Fauna etwas höher ist bei solchen Proben, die aus 5,5 m Tiefe entnommen sind, verglichen mit den Proben aus grösserer Tiefe. Jedoch zeigte die höchsten Werte eine Probe aus 26 m Tiefe; dies konnte der sehr grossen Zahl der Foraminiferen zugeschrieben werden.

Schon 1923 und 1932 wurden von zwei dänischen Forschern aus den selben Regionen des Meeres Informationen über die Macro-Fauna gegeben, woraus ersichtlich ist, dass die Quantität der Macro-Fauna in Tiefen von 5-10 m im Kopenhagener Hafen 400-500 gr. im qm beträgt, dabei im Durchschnitt 7-800 Species enthaltend. K r o g h fand, dass in einer Tiefe von 5,5 m die Quantität der Micro-Fauna 40 gr betrug und 80.000 Lebewesen durchschnittlich im qm enthielt.

Es scheint, dass an besagten Orten die Micro-Fauna ca. 10% der Macro-Fauna repräsentiert. In grösseren Tiefen im Sund betrug, in Übereinstimmung mit den vorangegangenen Untersuchungen, die Macro-Fauna 200 gr im qm. Die drei, aus 17 m Tiefe entnommenen Proben erbrachten eine Micro-Fauna von durchschnittlich 25 gr. im qm, also repräsentiert auch in diesem Fall die Micro-Fauna ungefähr 10% der Macro-Fauna.

Es ist wahrscheinlich, dass der Sauerstoffverbrauch der Micro-Fauna mindestens 3 bis 4 mal grösser ist per Gramm, als der der Macro-Fauna. Der Metabolismus der Micro-Fauna muss aus diesem Grunde weit grösser als 10%, wahrscheinlich etwa 40% sein. Aus den 1930 durchgeführten Untersuchungen über die Fauna des Waldbodens bei Bornebusch ist ersichtlich, dass relativ grosse Lebewesen, wie z.B. Würmer, den grössten Teil des Gewichtes lebender Tiere im Durchschnitt ausmachen. Daraus lässt sich folgern, dass sie auch die grösste Rolle für den Metabolismus spie-

len, selbst dann, wenn sie in nur geringer Anzahl per qm auftreten. Entsprechend scheint es auf dem Meeresgrunde bei Tieren der mittleren Grösse wie Polychäta und Lamelli branchiata zu sein, deren Einzelgewicht einige Gramm beträgt und die für den grössten Teil des Metabolismus verantwortlich sind. Vom Gesichtspunkt des Metabolismus gesehen, sind nicht die zahlenmässig am stärksten vertretenen Nematoden die Wichtigsten, sondern die Oligochäta, Polychäta und Prosobranchiata.

In den Proben von 5,5 m Tiefe spielen besonders die Prosobranchiata eine Rolle, ferner ist für diese Tiefe das Auftreten von Amphipoda, Isopoda und vieler Oligochäta charakteristisch.

In einer mittleren Tiefe von 17 m verschwinden die Amphipoda und Isopoda, die Prosobranchiata sind ganz unbedeutend und die Oligochäta selten, dagegen spielen Copepoda und Polychäta hier eine grössere Rolle, ebenso Halacaridae; Ostracoda und Cumacea sind von einer gewissen Bedeutung.

In einer noch grösseren Tiefe scheinen die Foraminiferen wichtig zu sein und auch die anderen Gruppen scheinen hier stärker vertreten zu sein. Die grösste Anzahl von Lebewesen wurde in einer Tiefe von 17 m gefunden. Wenn K r o g h auch nicht in der Lage ist, genauere Angaben zu machen, konnte er jedoch feststellen, dass verschiedene Arten von Nematoden in den verschiedenen Tiefen auftreten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass es mit Hilfe des K r o g h 'schen Apparates möglich wird, über die Micro-Fauna auf weichem Meeresboden eingehende Untersuchungen anzustellen und die Gewichtsverhältnisse zwischen Micro-Fauna und Macro-Fauna aufzudecken. - Es liegt ferner im Bestreben K r o g h s, mit Hilfe des Apparates etwas über die Bedeutung der Micro-Fauna für den Metabolismus in verschiedenen Tiefen und an verschiedenen Orten der Gewässer auszumachen.

V. Studien über den
Phosphorstoffwechsel in den
Zähnen

mit Hilfe radioaktiven Phosphors als Indikator.

(The exchange of phosphorus in teeth.

A. Krogh, G. Hevesy, J.J. Holst.

Det.Kgl.Danske Videnskabernes Selskab.Biolog.Medd.XIII,13,1937)

In diesen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass zwischen den Phosphoratomen der Zähne und denen des Blutes ein Austausch stattfindet.

Bei Ratten wurden während des Wachstums der Schneidezähne in grossem Ausmasse neuangelagerte Phosphoratome in nächster Nachbarschaft der Zahnpulpa gefunden. Sogar in einer grösseren Entfernung von der Pulpa der Schneidezähne konnten neuangelagerte Phosphoratome festgestellt werden. Es findet also auch in den Teilen der Schneidezähne, die ganz ausserhalb der Region der Pulpa sind, ein Phosphorstoffwechsel statt.

In den Molaren wurde nur ein ganz geringer Phosphorstoffwechsel gefunden, was vermutlich mit der Tatsache zusammenhängt, dass diese Zähne nicht wachsen.

Bei jungen Katzen konnte schon innerhalb einiger Stunden neben einem Austausch von Phosphoratomen eine Zunahme aktiven Phosphors ermittelt werden, entsprechend dem Wachstumsgrad der Zähne.

Auch für die menschlichen Zähne konnte ein Phosphorstoffwechsel bewiesen werden. In jedem Zahn fand man 1:300.000 des angewandten Phosphors. Die Wiederherstellung von einem Prozent des Phosphorgehaltes im menschlichen Zahn durch Phosphoratome, die mit der Nahrung aufgenommen werden, dauert etwa 250 Tage.

Diesen Arbeiten Kroghs ist in der Folge viel Interesse entgegengebracht worden und seine Resultate wurden von vielen Seiten bestätigt.

VI. Studien über die vergleichende Physiologie
der Atmungsmechanismen.

(The comparative Physiology of Respiratory
Mechanisms.)

(University of Pennsylvania, Press, Philadelphia, 1941)

1. Einleitung.

K r o g h gibt in dieser Veröffentlichung zur Hauptsache repräsentative Beispiele dafür, auf welche Art und Weise im Tierreich die Probleme der Atmung und besonders der Sauerstoffversorgung gelöst werden. Diese Beispiele reiht er in eine Art physiologisches System ein, das sich auf eine Analogie der Funktionen bezieht. Er zeigt, wie die im Tierreich geschaffenen Lösungen dieser Probleme von den physikalischen und chemischen Bedingungen beeinflusst werden. Quantitative Formulierungen der Ideen und Theorien sind dabei zur Aufzeigung der charakteristischen Merkmale notwendig.

Dieses Gebiet wird von Krogh mit drei Themastellungen bearbeitet:

1. Die enormen Unterschiede im Sauerstoffbedarf ("call for oxygen"), dargestellt an verschiedenen Organismen und unter wechselnden Bedingungen.
2. Die unterschiedliche Art und Weise der Sauerstoffaufnahme in den verschiedenen von Tieren bewohnten Gebieten.
3. als Hauptthema: Die Anpassung der Atmungsmechanismen an diese so ausserordentlich unterschiedlichen Bedingungen.

In dem von K r o g h als physiologisch und ökologisch bezeichneten System beschreibt er zuerst die Atmung derjenigen Tiere, die ihren Sauerstoff aus dem Wasser holen und zwar mit immer differenzierter werdenden Organen, die in den Kiemen der Fische ihren Höhepunkt erreichen. Die Entwicklung der Lungen bei luftatmenden Tieren wird bis zu ihrer Kulmination in Säugetieren und Vögeln verfolgt. In einem besonderen Kapitel werden die Atemfunktionen des Blutes bei einigen Tierarten besprochen. Als letztes wird die Trachealatmung erwähnt, bei der der Sauerstoff den atmenden Zellen direkt zugebracht wird, ohne die Vermittlung einer zirkulierenden Flüssigkeit.

2. "The call for oxygen"

In diesem Kapitel beschreibt K r o g h die verschiedenen Faktoren, die einen Einfluss auf den Sauerstoffbedarf haben. Der Einfluss der Grösse wird durch genaue Vergleiche in Tabellenform dargestellt, woraus ersichtlich wird, dass diese im allgemeinen einen grossen Einfluss auf den Sauerstoffbedarf hat. Viele Abweichungen jedoch zeigen, dass noch andere Faktoren wesentlich sein müssen. Im Hinblick auf das Rubner'sche Grundgesetz bleiben auch Widersprüche zu klären, die -- zum grossen Teil Unterschieden in der Organisation zuzuschreiben sind, z.B. dem verschiedenen Gehalt an Trockensubstanz und organischem Nitrogen. Auch darin sieht K r o g h einen Einfluss, wieweit ein Tier für gewöhnlich träge oder lebhaft ist.

Weiterhin ist der Sauerstoffbedarf von der Temperatur abhängig. Bei steigender Temperatur wird auch der Sauerstoffbedarf bis zu einem Punkt steigen, der der individuellen Kurve entspricht. Darüber hinaus gibt es nur noch ein geringes Ansteigen und dann einen nicht umkehrbaren Abfall, der die tödliche Gefahr anzeigt.

Besonderes Interesse wendet K r o g h dem Verhalten der Atemorgane bei maximaler Beanspruchung zu, das nur in sehr vereinzelt Fällen bekannt ist. Im allgemeinen steht die Muskelbetätigung in einem gewissen Verhältnis zur Körpertemperatur.

Die Muskeltätigkeit bestimmt auch, besonders wenn sie eine bestimmte Zeitspanne aufrechterhalten wird, die Anforderungen an die Atemorgane. 1936 ergab ein Untersuchungsergebnis von M. Nielsen, dass bei einer Muskelbetätigung des Menschen, bei der der Stoffwechsel mit dem zwanzigfachen des Ruhewertes seinen Höhepunkt erreicht hat, die Temperatur durchschnittlich auf $39,5^{\circ}$ steigt.

Die oxydativen Prozesse während einer maximalen Betätigung sind zur Hauptsache Restitutionsprozesse, die eine Zeit lang zurückgestellt werden können, während der sich der Organismus eine Sauerstoffschuld ("oxygen debt") zuzieht, die nach Beendigung des Aktivitätsausbruches zurückbezahlt werden muss. Bei Aufrechterhaltung der Aktivität wird ein "Steady state" erreicht - im allgemeinen nach etwa 3-5 Minuten-, der "call

for oxygen" steigt nicht mehr an und bleibt entsprechend der Betätigung mehr oder weniger konstant. Bei einem "steady state" kann die Sauerstoffaufnahme der Lungen beim Menschen und beim Pferd das zwanzigfache des Ruhezustandes übertreffen, beim fliegenden Tier sogar noch um Vieles mehr.

Sauerstoffmangel kann auch eine Abnahme des Stoffwechsels hervorrufen, ohne dass der Organismus weiteren Schaden erleidet. Nach K r o g h gibt es drei Möglichkeiten der Reaktion auf Sauerstoffmangel und zwar: Verlangsamung der vitalen Prozesse, unvollständige Oxygation im Sinne einer "oxygen debt", die dann abbezahlt wird, wenn wieder genügend Sauerstoff zur Verfügung steht und die Möglichkeit eines Überganges zum anaeroben Stoffwechsel.

3. Der Zugang zum Sauerstoff.

In diesem Kapitel gibt K r o g h einen Überblick über die verschiedenen Möglichkeiten des Organismus, sich Sauerstoff zu verschaffen. Selbst in Gebieten, in denen es schwierig ist, Sauerstoff zu erhalten und in denen die CO_2 -Konzentration einen solchen Grad erreicht, dass die Ausscheidung dieses Stoffwechselprodukts erschwert sein muss, findet man die verschiedensten Lebewesen. 1919 berechnete K r o g h die Zusammensetzung der Luft. Sie ist konstant und besteht zu 20,948 % aus O_2 , zu 0,030 % aus CO_2 , zu ca. 78 % aus N, und zu 0,94 % aus Argon. Durch Atmungs- und Verbrennungsprozesse kann eine Änderung der Luftzusammensetzung zustande kommen, die jedoch erstaunlich gering ist. In den Strassen einer Großstadt steigt der CO_2 -Gehalt z.B. auf höchstens 0,04 % mit einem entsprechenden Sinken des O_2 -Gehaltes. Auch in überfüllten Räumen bleibt die Veränderung innerhalb von 0,1 % und steigt praktisch in keinem Fall über 1 %. Solche Umschichtungen haben keinerlei wesentliche Wirkungen auf den Menschen oder die luftatmenden Tiere.

Im Folgenden beschreibt K r o g h den Zugang zum Sauerstoff im Wasser. Bei einer Temperatur von 15° ist der Absorptionskoeffizient für Sauerstoff 3,5 %, für Stickstoff 1,7 %, für CO_2 etwa 100 %. Während die Assimilation und die Atmung nur einen sehr geringen und lokalen Effekt auf den Sauerstoffgehalt der Luft haben, sind die Wirkungen im Wasser ganz andere.

Im allgemeinen genügt im Wasser die Sauerstoffversorgung aus der Luft - durch Assimilation und durch Sauerstoffverteilung auf dem Wege der Übertragung - um eine Konzentration des Sauerstoffs zu erreichen, die für die im Wasser lebenden Tiere ein Leben möglich macht.

Nach einem Versuch von K r o g h (1904) wird beim Schütteln einer geringen Menge Luft mit einer grösseren Menge Wasser in kurzer Zeit ein Gleichgewicht erreicht, indem der CO_2 -Gehalt der Luft zur CO_2 -Spannung des Wassers geworden ist. Zusatz von Alkali verringert die CO_2 -Spannung des Wassers, Säurezusatz vergrössert sie. In einer Lösung mit einem Säuregehalt von ca. $\text{pH}5$ wird CO_2 frei und die CO_2 -Spannung wächst entsprechend. Praktisch wird diese nie besonders gross sein, da CO_2 eine grosse Löslichkeit besitzt.

4. Der Transport von Sauerstoff (und CO_2) durch lebende Gewebe.

In einer lebenden Zelle sinkt bei Stoffwechselprozessen die O_2 -Konzentration auf Grund des O_2 -Verbrauchs so, dass die Sauerstoffmoleküle das Bestreben haben, in die Zelle hineinzudiffundieren, während CO_2 Moleküle austreten. Die Bedingungen für einen regulären Austausch sind dann gegeben, wenn Blut mit einer höheren O_2 - und niedrigeren CO_2 -Spannung an die Zelle gelangt.

Die Frage, wie weit es sich beim O_2 -Transport durch lebendes Gewebe um Diffusion oder um eine Sekretion handelt, ist noch nicht definitiv beantwortet worden.

Auf Grund verschiedener Experimente zieht K r o g h den Schluss, dass es sich beim Sauerstofftransport in den Atemorganen als auch im Innern des Organismus um Diffusion und Übertragung handelt. Da der Diffusionsgrad für CO_2 in Wasser und Geweben etwa 25 mal so gross ist wie derjenige für O_2 , nimmt K r o g h auch für CO_2 eine Diffusion beim Transport in Lösungen an.

Eine genauere Beantwortung der Frage, welche Kräfte den Sauerstofftransport als auch den CO_2 -Transport durch lebendes Gewebe bewirken, kann jedoch vorläufig nur vermutungsweise gegeben werden.

Der Diffusionsgrad durch Bindegewebe k_x beträgt etwa ein Millionstel von dem der Luft; in wässrigen Lösungen oder tierischer Membranen beträgt er etwa 300.000 bis zu einem Millionstel von dem der Luft.

Dass der Muskel selbst bei schwerster Arbeit mit genügend Sauerstoff versorgt wird, beruht auf der enormen Anzahl von Kapillaren, die in den Muskelfasern verteilt sind. Voraussetzung ist, dass das Blut in den Lungen mit genügend Sauerstoff versorgt ist.

5. Atmung im Wasser.

In diesem Kapitel beschäftigt sich K r o g h zuerst mit solchen Organismen, bei denen die Atmung ohne Atemorgane und ohne Zirkulation zustande kommt. Bei gewissen kleinen Organismen, z.B. kann der Sauerstoff an jeder Stelle des Körpers eindringen. Eine Sauerstoffversorgung durch Diffusion allein genügt jedoch bei Organismen mit einem etwas differenzierteren Stoffwechsel nur bis zu einer Grösse von ca. 1 mm. Diese Art der Atmung findet man bei einer Anzahl kleiner Tiere, wie z.B. Protozoa, Planaria, Rotatoria, vielen Milben, vielen Eiern und jungen Embryonen aller Gruppen, bei Larven wie Crustacea etc. Auch einige grössere Formen mit ganz einfachem Stoffwechsel scheinen ihren Sauerstoff allein durch Diffusion zu beziehen, z.B. Spongia, Calenterata und Cirripidia.

Eine andere, auf Diffusion durch undifferenzierte Oberfläche beruhende Form der Atmung ist mit einer Zirkulation verbunden, wie z.B. bei vielen Chätopoda, Hirudinea, Cephyrea, Synapta und Pantopoda.

Als ein spezifisches Atmungsorgan kann eine besonders vergrösserte Oberfläche bezeichnet werden, die mehr O_2 aufnimmt und CO_2 ausscheidet, als ihrem eigenen Stoffwechsel entspricht.

Für die Funktion eines solchen Atemorganes ist ein Übertragungstransport des Sauerstoffs mit Hilfe einer zirkulierenden Flüssigkeit notwendig, jedoch gibt es gewisse Systeme, in denen eine solche zirkulierende Flüssigkeit nicht vorhanden und auch nicht notwendig ist, wie beim Trachealsystem und den sogen. Wasserlungen der Holoteneria.

Bei den im Wasser lebenden Tieren wird die Atmung durch die Körperoberfläche im allgemeinen in den Kiemen vervollständigt. Eine geringe Ausbildung der Kiemen finden wir bei den niedrigen Formen. Bei den höheren Formen sind die Kiemen bedeutend

differenzierter und befinden sich häufig in einer Höhle. Erst bei den höheren Formen wie Crustacea, Cephalopoda und bei den Fischen wird die Atmung vermittels Sauerstoffmangel reguliert. Die Wirkung von CO_2 ist im allgemeinen nur gering.

6. Notatmung als Übergang zur Luftatmung.

Es gibt Notfälle, in denen die im Wasser lebenden Tiere durch einen Sauerstoffmangel gezwungen werden zur Luftatmung überzugehen. Solchen Notfällen werden z.B. die Süßwassertiere der Tropen häufig ausgesetzt. Im Meere tritt selten ein Sauerstoffmangel ein, nur die der Ebbe und Flut ausgesetzten Meerestiere müssen sich gelegentlich damit abfinden, dass ihnen das Wasser entzogen wird.

Für eine solche Notatmung können nur in den seltensten Fällen Kiemen angewandt werden, da sie auf Grund ihrer Weichheit in der Luft kollabieren. Einige brauchen einen Teil ihres Darmes zur Luftatmung und viele Fische benützen ihre Schwimmblase als zusätzliches Atemorgan. K r o g h weist darauf hin, dass die Schwimmblase wahrscheinlich auch das Organ ist, aus dem sich die Lungen der höheren Wirbeltiere entwickelt haben, wohl über Formen, die den Dipnoi verwandt sind.

7. Die Luftatmung.

Die Beschaffenheit der Luft macht eine Sauerstoffaufnahme um vieles leichter als das im Wasser der Fall ist. So enthalten bei 20°C und in gesättigtem Zustand ca. 200 g Wasser 1ml Sauerstoff, während die gleiche Menge Sauerstoff in 5ml Luft enthalten ist, die nur 7mg wiegt. Auch ist der Diffusionsgrad des Luftsauerstoffes etwa 300.000 mal höher als der des Wassers.

K r o g h bespricht eingehend die Wirkung von CO_2 auf den Atemmechanismus. Die CO_2 -Konzentration im Organismus muss um eine Diffusion möglich zu machen, grösser sein als die der Lunge. Der CO_2 -Gehalt des Blutes, der nur bis zu einer bestimmten Grenze für den Organismus erträglich ist, bestimmt, wieviel Sauerstoff aufgenommen wird. d.h. er reguliert bei vielen luftatmenden Tieren den Ventilationsmechanismus der Lungen und des Trachealsystemes.

Entsprechend der Entwicklungsstufe findet Krogh hier, wie bei den im Wasser atmenden Tieren immer differenzierter werdende Organe, die der Luftatmung dienen.

Bei Eiern und anderen Embryonen wird der Sauerstoff durch die gesamte undifferenzierte Oberfläche aufgenommen und zwar durch Diffusion. Dabei können diese Membranen, wie K r o g h es 1937 bei Forelleneiern nachwies, für Wasser mehr oder weniger impermeabel sein. In weiteren Stadien erleichtert eine Blutzirkulation die Sauerstoffversorgung des Organismus.

Auch nachdem sich bereits spezifische Atemorgane gebildet haben, pflegt die Körperoberfläche an der Atmung teilzunehmen. Eine Sauerstoffaufnahme durch die Haut wird immer dann stattfinden, wenn die Sauerstoffspannung des Blutes und des Gewebes nahe der Körperoberfläche niedriger ist als die der Atmosphäre und eine Permeabilität der Haut für Sauerstoff besteht, also unter Bedingungen, die fast immer vorhanden sind. Eine vergleichende Untersuchung der Haut- und Lungenatmung beim Frosch wurde von K r o g h durchgeführt (1904). Die gesamte Atmung erwies sich als sehr wechselvoll (70-170ml/kg/Stunde), die Hautatmung blieb jedoch mit ca. 50 praktisch konstant. Die grossen Variationen kamen also durch die Lungenatmung zustande.

Die gleiche Untersuchung führte K r o g h 1904 bei einigen Wirbeltieren (Tauben, Schildkröte) und beim Menschen durch. Die Sauerstoffaufnahme durch die Haut erwies sich aber bei ihnen zu gering, um für die Atmung eine Rolle zu spielen. CO_2 wird allgemein auf Grund seines hohen Diffusionsgrades zu einem grossen Teil durch die Haut ausgeschieden.

Einige auf der Erde lebende Isopoden haben luftatmende Kiemen, andere der gleichen Gruppe haben bereits funktionelle Lungen entwickelt. Die ersteren sind meist einer feuchten Umgebung ausgesetzt.

K r o g h gibt im Folgenden einen Überblick über die verschiedenen Formen der Lungen, die sich physiologisch unterscheiden als Diffusions- und Ventilationslungen.

Die Diffusionslungen können nur bei sehr kleinen Tieren für genügenden Gasaustausch sorgen. Man findet sie z.B. bei allen mit Lungen versehenen Gastropoden und bei einigen Arachnoiden. Auch die als Tracheen bezeichneten Atemorgane und die sogen. Buchlungen der luftatmenden Arachnoiden sind Diffusionslungen.

Bei den luftatmenden Schnecken hat sich die Lunge aus der Mantelhöhle entwickelt. Bei Schnecken, die ein Gehäuse tragen,

- 30 -

sind die Wände der Lunge muskulös und die Lunge ist ein Teil des Mechanismus mit dessen Hilfe sich das Tier in sein Gehäuse zurückzieht. In welchem Ausmasse sich die Lunge hierbei zusammenzuziehen vermag, zeigt K r o g h in einer Untersuchung. Bei der Messung des Lungenvolumens bei *Helix pomatia* fand er, dass dieses Volumen 5-7 ml betrug, wenn das Tier draussen war und weniger als 1 ml, wenn das Tier sich in sein Gehäuse zurückgezogen hatte.

Bei den Ventilationslungen findet der Luftaustausch mit der Atmosphäre durch Volumenänderungen der Lunge statt. Ventilationslungen findet man nur in der Entwicklungsreihe der Wirbeltiere. Zur Entwicklung grösserer Formen war die Ventilationslunge für die auf der Erde lebenden Tiere eine Vorbedingung. Bei einer immer differenzierter werdenden Struktur verbinden sie im gleichen Luftraum eine sehr grosse Oberfläche für den Gasaustausch mit nur geringen Diffusionsentfernungen.

Bei *Rana esculenta* fand K r o g h (1904) bei einem Luftinhalt von 5ml eine Oberfläche von ca. 100 cm². Beim Menschen betrug die Oberfläche ca. 90 m² bei einem Volumen von 1 3 l. Beim Frosch machte K r o g h die interessante Feststellung, dass die Kapillaren etwa 2/3 der gesamten Oberfläche einnahmen; beim Menschen noch bedeutend mehr.

Bei vielen Reptilien und besonders bei Schnecken haben grosse Teile der Lunge kein Atemepithel und nur eine geringe und zwar arterielle Blutversorgung. Diese "Luftsäcke" erreichen bei Vögeln ihre höchste Entwicklung und werden von K r o g h in einem besonderen Kapitel besprochen.

Der Mechanismus der Ventilation zeigt eine charakteristische Entwicklung. Die luftatmenden Amphibien füllen ihre Lungen durch einen Schluckmechanismus. Die Reptilien benutzen im allgemeinen schon ein aktives Saugen, das für die Inspirationsposition einen niedrigeren Druck im Pleuralraum voraussetzt als den atmosphärischen. Bei den Säugetieren ist der Pleuralraum bekanntlich völlig geschlossen und der Druck in allen Positionen "negativ".

Auch die Art und Anzahl der Ventilation ist sehr unterschiedlich. Bei den Amphibien und vielen Reptilien findet man kleine schnelle Bewegungsrhythmen, die nur den bucco-pharyngealraum mit Luft füllen, unterbrochen von einer gelegentlichen Lungen-

expiration und -inspiration. Bei allen bisher beobachteten Reptilien beschreibt K r o g h, dass nach einer schnellen Ein- und Ausatmung sich eine respiratorische Pause von verschiedener Länge einstellt. Bei den Warmblütern ist Inspiration und Expiration fast immer in einem regelmässigen Wechsel.

Die Regulation der mechanischen Respiration ist sehr kompliziert. Beim Menschen wird sie bekanntlich zur Hauptsache durch die alveolare CO_2 -Spannung reguliert, die auf das respiratorische Zentrum in der Medulla oblongata einwirkt. Wieweit CO_2 spezifisch oder auf Grund seiner in Lösungen säurebildenden Eigenschaften auf das respiratorische Zentrum wirkt, wurde durch Untersuchungen von M. N i e l s e n (1936) zugunsten der spezifischen Wirkung entschieden. Der Einfluss der Muskelarbeit auf die Atmung ist quantitativ nur beim Menschen bekannt; es wurde dabei die Menge des verbrauchten Sauerstoffs gemessen, die maximal 4-5 l. pro Minute betrug.

K r o g h fand 1913, dass bei Beginn einer Muskelbetätigung die Ventilation einen plötzlichen Anstieg zeigt, der nach ca. 3-5 Minuten einen "steady state" erreicht, indem sich die Ventilation dem Sauerstoffbedarf angepasst hat. Zu Beginn der Muskelbetätigung entspricht die Sauerstoffaufnahme nicht dem Bedarf des Organismus. Die dadurch entstandene "oxygen debt" kann, wie K r o g h und L i n d h e r d (1920) feststellten, erst nach Beendigung der Muskelerbeit vollständig ausgeglichen werden.

Bei den Vögeln ist der Atemmechanismus der Funktion des Fliegens angepasst. Nach K r o g h werden die neben den Lungen vorhandenen Luftsäcke mit $\frac{3}{4}$, die Lungen nur mit etwa $\frac{1}{4}$ der eingeatmeten Luft gefüllt. Dass die Ein- und Ausatmung mit dem Flügelschlag synchron geht - wie bisher allgemein angenommen wurde - konnte durch die neuesten Forschungen nicht bestätigt werden.

K r o g h betont, dass Metabolismus und Wärmeausstrahlung beim ruhenden Muskel annähernd so beansprucht werden, wie beim Fliegen.

Es gibt viele Tiere, die nicht nur bei Muskelbetätigung einen "oxygen debt" einzugehen vermögen, sondern auch im Ruhezustand. Sie benutzen diese Fähigkeit beim Tauchen. Ausserdem sind sie in der Lage, ihre Atmung und Zirkulation einem sol-

chen Zustand anzupassen. Sie zeigen nur eine sehr geringe Sensibilität für CO_2 und können deshalb ihren Atem lange Zeit hindurch anhalten. Den notwendigen Sauerstoff führen sie mit sich, indem sie ein grosses Blutvolumen mit einer hohen Haemoglobinkonzentration besitzen.

Während des Tauchens ist die Zunahme der Milchsäure nur sehr gering, um nach dem Auftauchen umso stärker zuzunehmen. Krogh schliesst daraus, dass während des Tauchens das Blut nur sehr langsam durch die Muskeln fliesst und er nimmt an, dass sich auf Grund der besonderen Bedürfnisse des Zentralnervensystems die Blutzirkulation und die damit verbundene Sauerstoffversorgung beim Tauchen zur Hauptsache auf das Gehirn und die Medulla beschränkt. Eine andere Schwierigkeit, die vom tauchenden Tier zu überwinden ist, besteht in den grossen Druckunterschieden, durch die beim schnellen Auftauchen leicht Stickstoff im Blut frei werden kann, wie es beim Menschen in der sogen. Caissonkrankheit geschieht. Diese Gefahr wird dadurch behoben, dass die Tiere nur sehr langsam auftauchen und die Lungen sich vor dem Tauchen zusammenziehen oder ganz kollabieren, wie bei den Säugetieren.

8. Die Atemfunktion des Blutes.

K r o g h bespricht in diesem Kapitel, welchen wesentlichen Faktor das Blut im gesamten Vorgang der Atmung einnimmt. Das Blut sorgt für den Übertragungstransport und vermag sein Volumen nach den jeweiligen Forderungen der verschiedenen Organe zu ändern. Zur Hauptsache beschäftigt sich K r o g h jedoch mit der Transportkapazität des Blutes. Diese ist von der Zusammensetzung des Blutes abhängig, die im Laufe der Entwicklungsreihe der Tiere immer komplizierter wird. Sie ist für CO_2 und O_2 verschieden.

CO_2 geht mit den verschiedenen im Blute vorhandenen Ionen - besonders mit den starken Kationen - Verbindungen ein. Die an der Atemoberfläche notwendige schnelle Ausscheidung aus diesen Verbindungen geschieht mit Hilfe eines Enzyms, der carbonischen Anhydrase, das in den roten Blutkörperchen vorhanden ist. Bei einigen Tieren wie Lumbricus und Amphioxus scheint es jedoch zu fehlen.

Die Transportkapazität für Sauerstoff ist im allgemeinen an

die respiratorischen Farbstoffe gebunden, und zwar hauptsächlich an Haemoglobin, daneben aber auch an Chlorocruorin, Haemerythrin und Haemocyanin. Haemoglobin vermag sich den verschiedenen und wechselnden oekologischen Bedingungen weitgehend anzupassen.

Bei vielen Tieren findet man Haemoglobin nicht im Blut, sondern nur im Gewebe. In diesen Fällen wirkt es als Sauerstoffspeicher, aus dem der Organismus im Notfall seinen Sauerstoff bezieht.

Haemocyanin wird im Blute vieler Mollusken und Crustaceen gefunden. Chlorocruorin ist im Blut von Serpulidwürmern, Haemerythrin in der Coelomflüssigkeit der Sipunculoidwürmer vorhanden.

Die Anpassung der Zirculation an die respiratorischen Bedürfnisse ist von gleicher Bedeutung wie die der Lungenventilation.

Sie ist jedoch nur beim Menschen und einigen Säugetieren genauer bekannt. In den oben wiedergegebenen Ausführungen über "Anatomie und Physiologie der Kapillaren" beschreibt K r o g h eingehend die Reaktion der Blutgefäße und besonders der Kapillaren auf eine vermehrte Muskeltätigkeit.

9. Die Trachealatmung.

Die Trachealatmung findet man bei Arthropoden und Insekten. Sie stellt eine Form der Atmung dar, bei der der Sauerstoff direkt an die Zelle geleitet wird. Diese Atmungsform setzt der Grösse der Tiere beträchtliche Grenzen.

Zwischen der Lungen- und der Trachealatmung gibt es viele Übergänge. Bei vielen Arachnoiden findet man z.B. verwandelte Trachealsysteme, die wie Lungen das Blut mit Sauerstoff versorgen. Die Tracheen haben sich ursprünglich bei Landtieren entwickelt. Erst sekundär haben viele im Wasser lebende Tiere ihre Tracheen den bestehenden Verhältnissen angepasst.

Die Tracheen der Landtiere zeigen der Lunge entsprechend zwei Formen: die Diffusionslunge und die Ventilationslunge.

K r o g h hat 1920 Messungen an dem Trachealsystem einer grossen Cossuslarve durchgeführt, die einen Gesamtquerschnitt aller Tracheen von $6-7 \text{ mm}^2$ ergab, bei einer Durchschnittslänge von 6 mm. Durch eine Röhre von dieser Dimension diffundiert der für den Metabolismus des Tieres notwendige Sauerstoff von $0,3 \text{ mm}^3/\text{sec.}$ schon bei einer Druckdifferenz von 11 mm, d.h. dass

hier eine Diffusion weitgehend in der Lage ist, den Sauerstoffbedarf auch bei Muskelbetätigung zu decken. In weiteren Versuchen konnte K r o g h nachweisen, dass diese Resultate für die meisten Tracheaten Gültigkeit haben. Die Sauerstoffversorgung der langen Beine verschiedener Insekten scheint besonders schwierig. K r o g h stellte 1912 fest, dass die Tracheen dieser Tiere zeitweilig nur eine sehr geringe Sauerstoffkonzentration aufweisen, insbesondere bei Muskelbetätigung. Bei einer Anzahl Insekten mittlerer Grösse wird ein Teil des Trachealsystems durch respiratorische Bewegungen ventiliert. Experimente von K r o g h (1920) an luftatmenden Wasserinsekten erwiesen, dass der Gastransport in den kleineren Trachealröhrchen von einer Länge bis zu einigen mm immer nur durch Diffusion zustande kommt.

Sie bei den luftatmenden Wirbeltieren gibt es auch Tracheaten, die erst sekundär zu Wassertieren wurden und ihr Tracheensystem den veränderten Verhältnissen anpassten. Einige dieser Tiere beziehen ihren Sauerstoff aus der Luft, durch Diffusion an der Wasseroberfläche. K r o g h hat diese Art der Tracheenatmung an Moskitolerven genau beobachtet. Bei vielen grösseren Insekten, die, um zu atmen, nur in Intervallen an die Oberfläche kommen, werden Haupttrachealstamm und Luftsäcke mechanisch ventiliert.

Viele Insekten nehmen an der Aussenseite ihres Organismus eine Luftblase mit ins Wasser, die wie Kiemen funktioniert. Das Tier verbraucht den Sauerstoff der Luftblase, dabei entsteht eine Differenz in der Sauerstoffspannung des Wassers und der Luft und der Sauerstoff des Wassers diffundiert in die Luftblase.

Andere Tiere, wie die Dipteralarve holen den notwendigen Sauerstoff aus den Intercellularräumen von Wasserpflanzen. Ähnliche Beobachtungen machte K r o g h bei der Larve von *Moskitomansonia*.

Eine weitere Anzahl der Wasserinsekten ist durch Entwicklung von Trachealkiemen von einem direkten Zugang zur Luft ganz unabhängig. Ausreichende Untersuchungen über die Regulation der Atmung bei Wasserinsekten liegen bisher noch nicht vor.

K r o g h beendet diese Ausführungen mit dem Hinweis, auf einige Gebiete, die genauer zu erforschen ihm wünschenswert erscheint. Ein solches Gebiet ist die Regulierung der Ventä-

lation durch die verschiedenen O_2 - und CO_2 -Konzentrationen. Ferner erscheint K r o g h eine Untersuchung über die Reaktionen der Atemmechanismen und den Metabolismus bei gesteigerter Betätigung notwendig und zwar nimmt er an, dass hierbei die Betätigung bei reduzierter Sauerstoffspannung wertvolle Anhaltspunkte geben würde. Als letztes richtet K r o g h die Aufmerksamkeit auf die bisher noch ungelösten Probleme, die mit längerem Sauerstoffmangel verbunden sind.

VII. Studien über den aktiven und passiven Austausch anorganischer Ionen durch die Oberfläche lebender Zellen und durch lebende Membranen.

(The active and passive exchanges of inorganic ions through the surfaces of living cells and through living membranes generally.

Croonian Lecture, 1946)

1. Einleitung.

Der Gegenstand der Forschungen innerhalb dieser Veröffentlichung ist die weitgehende Differenz in der Konzentration einzelner Ionen zwischen dem Zellinnern und der umgebenden Flüssigkeit lebender Gewebe, die als normal angesehen werden muss, überall vorhanden ist und als Ausdruck eines Dauerzustandes ("steady state") anzusehen ist, der durch eine besondere Aktivität von Seiten der Zelle aufrechterhalten wird, während Diffusionsprozesse dauernd bestrebt sind, diese zu reduzieren und sich durch die, notwendigerweise dafür aufzubringende Energie von einem Gleichgewichtszustand unterscheidet.

Die hierzu gehörenden Erscheinungen wurden gewöhnlich unter dem Titel "Permeabilität" behandelt. Im Vorliegenden zeigt K r o g h, dass der normal stattfindende Ionenaustausch zum grossen Teil durch aktiven Transport vor sich geht, obgleich eine Permeabilität der Zelloberfläche natürlich die notwendige Folge des Ionentransportes ist. Die quantitative Bestimmung dieser Permeabilität ist mit Hilfe von Isotopen möglich, erfordert jedoch schwierig durchzuführende Vorichtsmaßnahmen und Bedingungen. Der hier erbrachte Beweis bezieht sich nur auf die Ionen starker Elektrolyte, die in vielen Fällen für nahezu den gesamten osmotischen Druck im Organismus verantwortlich sind, oder doch wenigstens einen grossen Teil davon ausmachen.

Gelegentlich werden von K r o g h andere Substanzen zum Zwecke des Vergleichs, sowie verschiedene experimentelle Ergebnisse von anderer Seite zur Discussion herangezogen. Einige der hier berichteten Experimente von K r o g h und seinen Mitarbeitern wurden schon früher veröffentlicht. Unter dem Kapitel "The osmotic regulation in aquatic animals" wird hier eine kurze Zusammenfassung und neueste Ergebnisse spezieller Arbeiten über dieses Gebiet, die schon 1939 veröffentlicht wurden, gegeben.

Als K r o g h Mitte 1944 gezwungen wurde, Dänemark auf Grund der deutschen Besetzung zu verlassen, musste er die experimentelle Arbeit unterbrechen. K r o g h fand dann eine Zuflucht an der Universität Lund in Schweden, doch waren ihm während dieser Zeit viele der neuesten Publikationen nicht zugänglich.

Einleitend werden in dieser Arbeit einige Membranen, die aus Zellverbänden bestehen, angeführt, durch die entweder eine passive Diffusion oder ein aktiver Transport von Ionene, oder beides stattfindet.

2. Membranen, die nur passive Diffusion gestatten.

In dem Kapitel "Membranen, die nur passive Diffusion gestatten" führt K r o g h an, dass alle diejenigen Membranen dazugehören, die Exsudationsprodukte von Zellen sind, wie z.B. die Zellulosewand der Pflanzenzellen, das Chorionepithel vieler Eier, der Chitinpanzer der Arthropoden und vieler anderer. Ebenso zählen hierzu auch Membranen, die aus lebenden Zellen bestehen, oder Syncytien, die als sehr flach und dünn bekannt sind.

Während nichtlebende Membranen in Organismen Eigenschaften zeigen, die artifiziellen Membranen gleichen und praktisch konstant sind, hängen die Eigenschaften lebender Membranen von einigen Bedingungen für deren Vitalität ab, wie z.B. Sauerstoffmangel und Narcotics.

Das Capillarendothel (ausgenommen im ZNS) zeigt im allgemeinen freie Permeabilität für Ionen und hält die meisten Kolloide zurück. Für Protein besteht eine geringe und variierende Permeabilität, die für den Stoffwechsel der Gewebazellen wesentlich ist. Das Capillarendothel in Leber und Milz ist in erhöhterem Masse für Protein durchlässig. Zwischen den Ionen auf beiden Seiten der Membran besteht nahezu ein Gleichgewichtszustand, so dass K r o g h einen aktiven Transport von seiten des Capillarendothels nicht annimmt.

In den Nieren-Glomeruli ist eine Unterscheidung zwischen Capillarendothel und Endothel der Glomeruli nicht möglich. Dieses Epithel ist, ebenso wie das Capillarendothel anderorts, für Kristalloide durchlässig und für Kolloide undurchlässig, zeigt aber diese Permeabilität deutlicher definiert. Kein normalerweise im Blut anwesendes Protein wird durchgelassen

und die Konzentration des einzelnen Kristalloids im Ultrafiltrat entspricht nahezu genau derjenigen im Plasma. Die Differenz zwischen dem Blutdruck in den Glomeruli und dem kolloid-osmotischen Druck ist so gering, dass die Filtration unmittelbar gefährdet ist, wenn nur ein geringer Teil der Kristalloide zurückgehalten würde. Bei rascher Filtration einer proteinfreien Lösung zeigten die einzelnen Ionen einen Gleichgewichtszustand, der der *Donnan*-Bedingung untersteht.

Der Grad des Ionenaustauschs durch das Capillarendothel des Zentralnervensystems unterscheidet sich grundsätzlich von demjenigen ausserhalb des ZNS. Die in Versuchen zu Tage getretene Impermeabilität dieses Capillarendothels für Trypanblau liess die "Barriere" in diesem Endothel vermuten. Die 20-30% des Totalvolumens betragende Flüssigkeit in den weiten pericapillären und extracellulären Räumen, die durch die Capillarwände mit dem Blutplasma ausgetauscht wird, kommt der freien Cerebrospinalflüssigkeit von den Cisternen und dem Spinalkanal sehr nahe. Sie unterscheidet sich von dem Plasmaultrafiltrat durch einen bedeutend grösseren Gehalt an Cl^- und Mg^- und einen geringeren K^+ -Gehalt.

Eine selektive Sekretion oder aktive Absorption von gewissen Ionen muss dabei im Spiele sein, konnte aber noch nicht lokalisiert werden. Einige Anionen (Bromide, Jodide, Thiocyanate, Phosphate und Chloride), die in den Extracellularräumen des übrigen Körpers in wenigen Minuten mit dem Blut in ein Gleichgewicht kommen, sind im ZNS nach 3 Stunden noch nicht annähernd ausgeglichen. Kationen permeieren vielleicht noch langsamer. Dabei sind die elektrischen Eigenschaften der Ionen für die Bestimmung der Permeation nicht wesentlich.

Organische Kristalloide wie Zucker und Harnstoff permeieren nur langsam. Harnstoff ist in nahezu gleicher Konzentration vorhanden wie im Blut. Die Glukosekonzentration ist normalerweise im Liquor und in den Extracellularräumen des Gehirns nur halb so gross wie diejenige des Blutes, (benützt zur Dehydrierung des Gehirns durch massive Glukoseinjektionen in die Blutbahn.).

Lipoidlösliche Substanzen gehen im allgemeinen sehr leicht durch die Capillarwände des ZNS. In noch nicht veröffentlichten Versuchen von *H o l m - J e n s e n* wurde versucht,

das relative Maß der Permeation von Chloroform, Aethylalkohol und Aethylurethan zu bestimmen, die alle sehr leicht permeieren, im Maß der Verabfolgung. Sauerstoff und andere Gase, die ziemlich lipoidlöslich sind, permeieren ebenso leicht. Wasser geht sehr leicht und sogar schneller als die genannten lipoidlöslichen Stoffe hindurch.

K r o g h ist der Ansicht, dass man sich bei der Suche nach Drogen, die auf dieses System wirken, von ihrer Lipoidlöslichkeit leiten lassen soll und nicht von ihrer elektrischen Ladung. Eine sekretorische Funktion dieses Endothels konnte noch nicht bewiesen werden.

Diese Eigenschaften der Gefäßmembran des ZNS sind im wesentlichen innerhalb der Reihe der Wirbeltiere die gleichen, wie K r o g h in verschiedenen Experimenten zeigte.

In einem zweiten Kapitel über den Ionentransport durch Membranen - von einer Oberfläche einer Zellmembran zur gegenüberliegenden - weist K r o g h darauf hin, dass eine sehr viel konzentriertere Lösung zwischen den Membranen durchströmen kann, als es diejenige ist, von der Ionen und Wasser herrühren, und dass unzweifelhaft in diesem Prozess Energie verwendet wird, die teilweise eine Umwandlung in osmotische Kraft der konzentrierteren Lösung findet.

K r o g h führt hier Untersuchungen über das "Bluten" von Weizenwurzeln von L u n d e g a r d h (1943) an. Normalerweise findet ein Ionentransport aus dem Wasser des Bodens in den Saft der Pflanze statt, der dann durch den Stamm hinaufsteigt und manchmal einen Druck bis zu 7 atm. gezeigt hat. In vielen Fällen ist dieser Transport ein aktiver, wie aus dem Konzentrationsüberschuss des Saftes gegenüber der Aussenflüssigkeit ersichtlich ist, sowohl im Hinblick auf einzelne Ionen, als auch auf die Gesamtheit der Ionen. Ein aktiver Transport freier Ionen entgegen einem Gefälle findet statt und eine osmotische Wasseranziehung ist die Folge.

3. Die osmotische Regulation bei Wassertieren.

Während pflanzliche "Membranen" eine grosse Menge verschiedener Ionen auf einmal aufnehmen und konzentrieren und dabei sehr viel Energie verbrauchen, arbeiten tierische Membranen, indem sie nur gewisse Ionen aufnehmen, so ökonomisch, dass es noch nicht möglich war, den Stoffwechsel zu messen, von

dem man annehmen muss, dass er dort stattfindet. In dem nun folgenden Kapitel über "die osmotische Regulation bei Wassertieren" die eine kurze Zusammenfassung und Weiterführung der eingehenden Untersuchungen Krogh's auf diesem Gebiet darstellen (1939 gesondert veröffentlicht), beschreibt Krogh den Absorptionsmechanismus für bestimmte Ionen in zumeist stark verdünnten Lösungen unter Ausschluss anderer Ionen, bei Süßwassertieren aller grösseren systematischen Gruppen. In einigen Fällen war es ihm möglich, diesen Absorptionsmechanismus in gewissen Membranen anatomisch zu lokalisieren. Aus den Kiemen von Fischen wird ein unabhängiger Mechanismus für die Absorption von Cl^- und Br^- beschrieben, der NO_3^- , J^- und CN^- ausschliesst, während ein anderer Mechanismus Na^+ absorbiert und K^+ ausschliesst. Bei Meeresteleostfischen befördern die Kiemen Chloride aus dem Blut, mit einer Cl-Konzentration von über 200 mM ins Meerwasser, das normalerweise eine Cl-Konzentration von 534 mM hat. Die Annahme, dass bestimmte Zellen in den Kiemen für diese Sekretion verantwortlich seien, wird angezweifelt. Krogh nimmt einen gemeinsamen Transport für Cl^- und Na^+ an, von dem nur einer aktiv sein muss. Der Cl-Transport nimmt bedeutend zu, wenn der Konzentrationsunterschied vermindert wird, findet jedoch nur dann statt, wenn die innere Konzentration über die, für den Fisch notwendige Norm ansteigt; das zeigt, dass die Sekretion reguliert ist. Bei hungernden Süßwasserfischen besteht ein beständiger Salzverlust durch den Urin, der nicht salzfrei werden kann, und durch die Kiemen. Dieser Verlust wird durch Absorption durch die Kiemen aus der umgebenden stark verdünnten Lösung ausgeglichen, bis ein "steady state" erreicht ist. Bei Untersuchung der aktiven Absorption im einzelnen erweist sich bei einem längeren Aufenthalt in destilliertem Wasser der Salzgehalt eines Fisches vermindert. Wird der Fisch daraufhin einer Untersuchungslösung übergeben, die nur ein Salz enthält, werden ein oder beide Ionen in einem Ausmasse absorbiert, das weit über den entsprechenden Verlust hinausgeht. In einem solchen Experiment (1938) zeigte Krogh, dass Goldfische Cl^- absorbieren können entgegen dem Konzentrationsgrad verdünnter Lösungen (millimolar oder weniger) von NaCl , KCl , NH_4Cl und CaCl_2 , sowie von Mischungen dieses Salzes mit Nitraten und Jodiden, die nicht absorbiert wurden. Der

dafür verantwortliche Mechanismus absorbiert auch Br^- , aber weder J , noch NO_3^- , noch CN^- . Cl wird absorbiert (und vermutlich mit HCO_3^- ausgewechselt) ohne Verbindung mit einem Kation aus NH_4Cl und CaCl_2 . Wird aber ein Kation gleichzeitig mit Cl absorbiert, so ist die aufgenommene Gesamtmenge entschieden grösser und die Absorption geht schneller vor sich. Auch für die Kationenabsorption besteht ein selbständiger Mechanismus, der Na^+ absorbiert aus verdünnten NaCl , $-\text{NaBr}$, $-\text{und NaHCO}_3^-$ Lösungen oder von Mischungen derselben. Diese Absorption ist ebenfalls unabhängig von einer gleichzeitigen Anionenabsorption und gewöhnlich von einer NH_4^+ -Ausscheidung begleitet. Dabei zeigte sich als eine bemerkenswerte Tatsache, dass K^+ überhaupt nicht absorbiert wird. Bei Mischungen von Kalium- und Natriumsalzen kann Na fast vollständig aufgebraucht werden (bis zu Konzentrationen unter $0,1\text{mM}$), während K zurückgelassen wird. Bei genügend verdünnten Lösungen nimmt der Verlust durch Diffusion und durch den Urin das Ausmass der Absorptionskraft an. Die Grenz-Konzentration variiert bei den verschiedenen Fischarten weitgehend und fand sich bei *Leuciscus rutilus* besonders niedrig, der die Cl -Konzentration der Untersuchungs-lösung auf $0,02\text{mM}$ reduzierte. Bei *Eriocheir sinensis*, einem Tier, das weit in Flüsse vordringen kann, aber im Meer brütet und als ein neuer Einwanderer ins Süsswasser angesehen werden kann, zeigte sich der Anionen- und Kationenabsorptionsmechanismus als viel weniger selektiv. Der Anionenabsorptionsmechanismus absorbierte neben Cl und Br auch Cyanate, Thiocyanate und sehr giftige Säuren. Alle diese Ionen sind chemisch nahe verwandt. Das von den Pflanzenwurzeln in so grossem Umfang aufgenommene NO_3^- wird von *Eriocheir* überhaupt nicht absorbiert. Sein Kationenabsorptionsmechanismus unterscheidet auch nicht zwischen K und Na , wie das die bisher studierten, echten Süsswasserformen tun. Bei *Eriocheir* muss der Salzabsorptionsmechanismus in den Kiemen lokalisiert sein. Die Absorptionskraft ist sehr beachtlich, jedoch die Grenz-konzentration ziemlich hoch (um $0,3\text{ mM}$).

Bei vielen anderen Arthropoda, einschliesslich der Süsswasser-Crustacea *Astacus* und *Daphnia*, sowie bei einer Anzahl Süsswasserinsekten konnte der Ionenabsorptionsmechanismus dadurch entdeckt und sichtbar gemacht werden, dass er sich schwarz

färbte, wenn die Tiere einige Zeit in verdünnten Silbersalzlösungen (AgNO_3) gehalten wurden und danach dem Licht ausgesetzt. Da das Ag-Ion chemisch nahe verwandt ist mit Na^+ , nimmt K r o g h an, dass man es mit einem spezifischen Kationenabsorptionsmechanismus zu tun hat, der wahrscheinlich durch Ag blockiert wird. Ein besonderer Anionenabsorptionsmechanismus konnte bewiesen, aber nicht lokalisiert werden. Die Reaktion auf Ag-Ionen wurde bisher nur bei Arthropoden beobachtet.

K r o g h weist auf die bemerkenswerte Tatsache hin, dass bei Wassertieren der Ionenabsorptionsmechanismus eindeutig in dem Sinne reguliert wird, dass die normale Zusammensetzung und osmotische Konzentration des Blutes und der extracellulären Flüssigkeit der Tiere aufrechterhalten wird. K r o g h nimmt weiterhin an, dass die Ionenkonzentration der Gewebsflüssigkeit auf die tätige Zelle wirkt, aber Beweise hierfür konnten noch nicht erbracht werden. Da Kationen und Anionen beide unabhängig voneinander gegen grosse Konzentrationsunterschiede befördert werden, handelt es sich nicht um ein echtes Gleichgewicht. Wenn Süßwassertiere eine Konzentration von 100mM oder mehr innerhalb ihres Körpers aufrechterhalten, wenn sie in einer Flüssigkeit mit sehr niedriger Konzentration leben und dies mit einem Minimum von Energieaufwand zuwege gebracht wird, muss die Diffusionspermeabilität der exponierten Oberfläche für Ionen und Wasser sehr gering sein. Die Permeabilität für Ionen konnte noch nicht genau gemessen werden. Für Wasser ist sie, ausgedrückt in der Zeit, die notwendig ist, damit 1 cm Wasser durch 1 cm^2 Membran hindurchdiffundiert bei einer Druckdifferenz von 1 Atm. einige Wochen in den sehr permeablen Fällen bis zu einigen Jahren und es wird ebenso eine sehr geringe Permeabilität für Ionen inbegriffen sein.

Die Absorptionsprozesse gehen in den Kiemen vor sich und es scheint, dass die flachen und dünnen Zellen (oder Syncytien bei Astacus) der Kiemenlamellen diese Tätigkeit vollbringen. Da die Eigenschaften des Zelloberhäutchens - eine ausgerichtete Lage von Molekülen oder Micellen von wenigen Millimicra Dicke) - für die passive Permeabilität und für den aktiven Ionentransport verantwortlich sind, nimmt K r o g h an,

dass die Energie von Prozessen im Protoplasma herrührt und dass für die Absorptionsprozesse in den Kiemen ganz dünne Zellen genügen.

In weiteren führt K r o g h Untersuchungen über die Ionenabsorption in den Tubuli der Nieren an, die zeigen, dass dort ein spezifischer Mechanismus für eine, gegenseitig unabhängige Absorption bestimmter Ionen entgegen einem Konzentrationsunterschied lokalisiert sein muss. Die aus der Bowman'schen Kapsel in die Tubuli eintretende Flüssigkeit ist praktisch ein Ultrafiltrat des Blutes, das alle Ionen in derselben relativen Proportion enthält. Der Urin, der die Nieren verlässt, ist davon sehr verschieden und bei Süßwassertieren ausgesprochen verdünnt. Bei diesen Tieren besteht die Hauptfunktion in der Regulierung des Wasserausgleichs. Blut und Interstitialflüssigkeit ist sehr hypertonisch gegenüber dem Medium. Das Wasser wird osmotisch aufgenommen und durch die Nieren wieder ausgeschieden, die die meisten Salze rückresorbiert. Wahrscheinlich gibt es für die einzelnen Ionen spezifische Absorptionsmechanismen (bei den Amphibien am distalen Teil der Tubuli lokalisiert).

Unter Heranziehung der Untersuchungen von V i s s e h e r u. a. über die aktive Ionenabsorption im Darm von Säugetieren, die einen Mechanismus für die aktive Aufnahme univalenter Ionen erbrachten, nimmt K r o g h Stellung zu der von V i s s e h e r aufgestellten "fluid-circuit-Theorie". Er sagt, dass man wohl die Annahme aufstellen könnte, eine aktive Aufnahme von reinem Wasser aus dem Meer durch die Kiemen in das Blut der Fische fände gleichzeitig mit einer aktiven Sekretion von NaCl statt, die isotonisch mit dem Blut ist, aber es wäre dann verwunderlich, warum eine solche aktive Wasseraufnahme nicht durch sich selbst den osmotischen Wasserverlust ausgleicht und damit den gefundenen Mechanismus (Trinken von Meerwasser und Ausscheiden von Cl durch den Urin) überflüssig mache.

Der Mechanismus für eine aktive Wasseraufnahme ist nur in einer relativ geringen Anzahl von Fällen bekannt. Hauptsächlich von den Nierentubuli der Säugetiere (Henle'sche Schleife) und von der Kloake der Vögel und vieler Insekten nimmt

K r o g h an, dass das Wasser als solches von einer Flüssigkeit mit hoher osmotischer Konzentration (Urin) zu einer mit niederer Konzentration (Blut) transportiert wird, ohne von irgendwelchen Ionen begleitet zu sein (obgleich zu gleicher Zeit Ionen in das Blut diffundieren können). Da sich der Mechanismus für den Wasser- und Ionentransport in den Nieren als getrennt lokalisiert erwies, (der eine in der Henle'schen Schleife, der andere im distalen Tubuli-Ende) nimmt K r o g h dasselbe auch für den Wasser- und Ionenabsorptionsmechanismus des Darmes an, jedoch gleichzeitig wirksam. K r o g h weist auf die Notwendigkeit hin, in neuen Experimenten mit verschiedenen Anionen und Kationen die Ausschliesslichkeit des Mechanismus festzustellen und damit herauszufinden, ob nur die einen Ionen aktiv absorbiert werden können und die Gegensätzlichen elektrostatisch angezogen werden.

4. Der Ionenaustausch zwischen Zellen und ihrer Umgebung.

Beim Studium des Ionenaustausches zwischen Zellen und ihrer Umgebung, dem K r o g h ein besonderes Kapitel widmet, unterscheidet er zunächst zwischen Pflanzenzellen und tierischen Gewebszellen. Erstere sind in der Überwiegenden Mehrzahl von einer starren Zellulosemembran umgeben, die fähig ist, einem hohen osmotischen Druck standzuhalten, während die tierischen Gewebszellen nackt sind, d.h. nur von einem Zelloberhäutchen umgeben, und nur einem geringen Druck aushalten können. Gewöhnlich ist daher der osmotische Druck in Pflanzenzellen wesentlich höher als der der umgebenden Flüssigkeit und ist die Veranlassung für den charakteristischen Turgor. Ebenso ist es für Pflanzenzellen charakteristisch, dass sie sehr gross werden können und eine grosse Vacuole einschliessen, die einen Saft von sehr geringer Protein-Konzentration enthält (und anderer hochmolekularer Substanzen). In der tierischen Zelle ist keine Vacuole. Die Ionen und andere niedermolekulare Substanzen sind im "freien" Zellwasser gelöst, das in den meisten Fällen praktisch das gleiche ist wie das "totale" Wasser. Als notwendige Folge davon, dass die Oberflächenmembran frei durchgängig ist für Wasser, muss innerhalb und ausserhalb die gesamte osmotische Konzentration die gleiche sein.

Der Pflanzensaft, sowie die intercelluläre Flüssigkeit des tierischen Gewebes nehmen die Ionen aktiv aus der umgebenden Flüssigkeit mit geringerer Konzentration auf. So z.B. werden bei Nitella-Zellen viele verschiedene, d.h. nahezu alle Ionen aufgenommen, mit entschiedener Bevorzugung von Kalium und werden im Zellsaft konzentriert oder aber ganz ausgelassen. Im tierischen Gewebe werden nur gewisse Ionen aufgenommen, besonders Na und Co aktiv. Der Hydrostatische Druck wird durch die Nierentätigkeit niedrig gehalten, diese wiederum schließt eine bevorzugte Absorptionsfähigkeit für gewisse Ionen aus dem Blutultrafiltrat ein.

a) Ionenaustausch bei Pflanzenzellen.

Das Kapitel über den Ionenaustausch bei Pflanzenzellen enthält interessante Versuche über den Ionenaustausch in Pflanzenriesenzellen, deren Saft direkt analysiert werden konnte. Dabei zeigte sich, dass die Ionen in diesem Saft nur zu einem geringen Prozentsatz in organischer Kombination vorkommen und meistens ihre osmotische Funktion frei ausüben. Die im Saft enthaltenen organischen Bestandteile betragen nur 0,3 %, davon weniger als 0,1 % Protein. Es werden genaue Saftanalysen bei Pflanzenriesenzellen von O s t e r h o u t (1933) in diesem Zusammenhang angeführt.

Bei den marinen Formen erwies sich die osmotische Konzentration nicht viel höher als die des Meerwassers. Diese Formen sind rund oder ellipsoid, einige Zentimeter lang und von einer Zellwand umgeben, die nicht besonders widerstandsfähig ist. Chara- und Nitellazellen sind zylindrisch, mehrere Zentimeter lang und über 1 mm dick, ihre Zellwände sind widerstandsfähig gegen hohen hydrostatischen Druck.

Characeae dagegen haben einen überschüssig konzentrierten Zellsaft. K r o g h führt hier Versuche von C o l l e n d e r an, mit einer Anzahl Characeen, aus denen hervorgeht, dass diese Pflanze praktisch alle Kationen absorbiert, denen sie ausgesetzt wird, einschliesslich Li, Sr, Cs, Co. In diesen Versuchen wird auch gezeigt, dass die aktive Salzaufnahme nicht, wie angenommen wurde, nur während des Wachstums stattfindet, sondern nach Beendigung des Wachstums weitergeht bis die Zelle schliesslich birst, was oft vorkommt, bei gewissen Formen sogar normalerweise. K r o g h nimmt hier

mit C o l l a n d e r an, dass die Protoplasmamembran für die absorbierten Ionen durchgängig ist. Ein gewisser Verlust findet durch Diffusion statt und wird durch die Aufnahme wieder ausgeglichen. Wenn dann in der ausgewachsenen Zelle ein "steady state" erreicht ist, wäre es theoretisch möglich, dass er dadurch aufrechterhalten wird, dass die Membran für die betreffenden Ionen vollständig undurchlässig wird. Wahrscheinlicher jedoch ist es, dass der durch Diffusion eintretende geringe Verlust durch die Aufnahme ausgeglichen wird. Dieser Gesichtspunkt bewog C o l l a n d e r zu dem Versuch, die passive Permeabilität der Membran zu bestimmen, die gleichzeitig neben der aktiven Ionenaufnahme besteht. Da die Resultate dieser Versuche sich nicht als eindeutig erwiesen, erschien es K r o g h die einzige Möglichkeit, die Bestimmung der passiven Permeabilität von Zellen mit Hilfe von Isotopen durchzuführen, die chemisch vollständig identisch sind, sich nur in ihrer Radioaktivität unterscheiden. Diese Bestimmungen wurden von K r o g h und C o l l a n d e r gemeinsam in den Acta botanica Fennica (H o l m - J e n s e n, K r o g h und W a r t i o v a a r a 1944) veröffentlicht.

Im Vorliegenden gibt K r o g h einen Überblick über diese Resultate. Notwendige Voraussetzung für die Permeabilitätsbestimmung ist, dass im Hinblick auf das in Frage stehende Ion ein "steady state" erreicht ist und während des ganzen Experimentes aufrechterhalten werden kann. Wenn dann eine ganz geringe Menge des Isotopes eines in der Versuchslösung anwesenden Ions hinzugefügt wird, ohne Veränderung der Konzentration, so wird das Protoplasma und der Zellsaft gradweise radioaktiv und die nach einer bestimmten Zeit erhaltene Aktivität ist ein Maß für die betreffende Ionenaufnahme von aussen; eine Aufnahme nämlich, die dem gleichzeitigen Ionenverlust als entsprechend angenommen werden kann.

In Experimenten mit radioaktiven Isotopen von Na und K bei *Tolypellopsis* und *Nitella* wurden nach kurzen Untersuchungsperioden gesonderte Proben vom Saft und vom Protoplasma bestimmt. Die im Saft und Protoplasma gefundene Radioaktivität wurde im Verhältnis zur gleichzeitigen Aktivität der Versuchslösung ausgedrückt und zur Berechnung der konstanten Permeabilität P benützt, die in cm/hr ausgedrückt wird und mit dem Flüssigkeitsvolumen, in ml, im Innern, das in 1 hr durch 1 cm

der Protoplasmanembran diffundiert, correspondiert, in Übereinstimmung mit der Formel:

$$P = \frac{\text{volume}}{\text{surface} \times \text{time}} \log_n \frac{\text{concentration in sap (Cs)}}{\text{Cs-O}_{\text{outside}} (\text{activity s/activity o})}$$

Die resultierende Permeabilität erwies sich als sehr niedrig (zwischen 10^3 und $0,1$ mal 10^{-5} cm/hr), niedriger für die Süßwasserformen als für die Meerwasserformen und niedriger für Na als für K. Die Folge dieser sehr geringen Permeabilität ist, dass die von der Zelle zur Aufrechterhaltung eines "steady state" benötigte Arbeitsleistung auch eine geringe ist. Im Prinzip sind diese, für Pflanzenriesenzellen erhaltenen Resultate für die Mehrzahl aller Pflanzenzellen gültig, die in mechanisch widerstandsfähige, aber hochpermeable Zellulosewände oder dergl. eingeschlossen sind. Während des Wachstums der Zelle besteht eine beträchtliche Anhäufung von Ionen mit einer absoluten Konzentration, die meist diejenige der umgebenden Flüssigkeit weit überschreitet. Diese überschüssige Konzentration wird ebenfalls nach Beendigung des Wachstums aufrechterhalten und verursacht den Turgor. K r o g h glaubt auch hier annehmen zu können, dass in den reifen Zellen ein "steady state" aufrechterhalten wird, der den Verlust durch Diffusion mit einer aktiven Ionenaufnahme wieder ausgleicht. Wie bei den Pflanzenriesenzellen bestehen im allgemeinen grosse Unterschiede in der Affinität der Zellen für bestimmte Ionen, wie C o l l e n d e r ausführt. K r o g h macht darauf aufmerksam, dass diejenigen Flüssigkeiten, die in Kontakt kommen mit den Zellen im Pflanzenstengel, in den Blättern, in Blüten und Früchten, im allgemeinen unbekannt sind und nur die Flüssigkeit des Bodens von bekannter Zusammensetzung ist. Die Wurzeln sind für die aktive Ionenabsorption besonders geeignet. Die Ionen werden teilweise im Saft durch den Stengel hinaufgeführt, zum andern Teil in wachsenden Wurzeln gespeichert. In vielen Fällen fand sich die Ionenhäufung in den Zellen in Abhängigkeit von der Aktivität des Stoffaustausches, der mit der Respiration und der CO_2 -Produktion verbunden ist. Wichtig ist, dass der Respirationsprozess die Energie liefert; CO_2 als solches hat nichts mit dem Prozess zu tun.

Im Folgenden werden Experimente von L u n d e g a r d h (1940) angeführt, die überzeugend beweisen, dass die Anionen aktiv transportiert werden, während Kationen elektrostatisch angezogen werden. Dabei variiert die erforderliche Energie für die Anionenkonzentration, sie ist geringer für monovalente als für divalente Ionen und NO_3 scheint am leichtesten absorbiert zu werden. Das mag jedoch davon herrühren, dass die NO_3 -Konzentration im Saft relativ niedrig gehalten wird, weil ein grosser Teil sofort in der organischen Synthese Verwendung findet. Auch die Kationen werden in der Regel unabhängig von der äusseren Konzentration aufgenommen und Kalium in den meisten Fällen bevorzugt. Kein Ion wird definitiv ausgelassen. Die Ionenabsorption erwies sich als unabhängig von der gleichzeitigen Wasseraufnahme, die zum grössten Teil osmotisch ist, aber zu einem gewissen Teil auch eine aktive sein kann. Die Permeabilität der Wurzeln scheint sehr hoch zu sein und das Ausmass der für die Ionenaufnahme erforderlichen Energie ist beträchtlich. L u n d e g a r d h vermutet auf Grund seiner Studien eine spezielle dynamische Struktur der Oberflächenmembran, die mit einem monomolekularen Langmuir-Häutchen verglichen wird, bestehend aus langen Lipoidmolekülen. Dieses Wurzelhäutchen muss ein Mosaik sein und sowohl eine anionisch hydrophile, als auch eine kationisch hydrophile Atomgruppe darstellen, die in der Membran separiert sind. Aber jede dieser Gruppen ist fähig, Ionen auszutauschen. Wenn, wie K r o g h sagt, diese Annahme L u n d e g a r d h s auch auf tierische Membranen und Zelloberfläche ausgedehnt werden kann, müssen notwendigerweise Moleküle oder Micellae mit hoher spezialisierter Ionenaffinität angenommen werden.

L u n d e g a r d h s Hypothese stellt den ersten Versuch dar, einen Mechanismus anzunehmen, der für den aktiven Ionentransport verantwortlich sein kann. K r o g h verwendete diese Konzeption, trotzdem er sie für sehr hypothetisch hielt, für experimentelle Arbeiten, die er 1942 in seinem Laboratorium begann und von denen er hier einen kurzen Überblick gibt. Diese Experimente waren bis jetzt unveröffentlicht geblieben. K r o g h unternahm den Versuch einer direkten Berechnung des Abstandes der negativ geladenen Elemente in der Protoplasmaoberfläche, den L u n d e g a r d h nach der Annahme berechnet hatte, dass das Oberflächenpotential mit PH 3 übereinstimmt und dem Abstand

von Anionen in einer millimolaren Säurelösung gleichkommt. In Übereinstimmung mit L u n d e g a r d h müssen alle negativen Valenzen der Oberfläche mit H Ionen abgesättigt sein, wenn Wurzeln einer millimolaren oder halbmillimolaren HC $\bar{1}$ ausgesetzt werden. Die H Ionen werden in destilliertem Wasser festgehalten, aber durch Metallionen ersetzt, wenn die Wurzeln einer Salzlösung ausgesetzt werden. K r o g h hielt es deshalb für möglich, den Austausch durch Bestimmung der Radioaktivität zu messen, wenn die Wurzeln einer $^{24}\text{NaCl}$ ausgesetzt werden und führte Versuche in diesem Sinne durch.

In einleitenden Versuchen wurden Weizenwurzeln, deren Oberfläche und Volumen sorgfältig gemessen wurde, verschiedenen Lösungen ausgesetzt: 1. einer $\frac{1}{2}$ mM hydrochlorigen Säure, 2. Aqua dest. 3. einer millimolaren radioaktiven NaCl-Lösung und 4. entweder dest. Wasser oder inaktiver HC $\bar{1}$. Schliesslich wurden die Wurzeln zerschnitten und entweder getrocknet oder direkt ausgesetzt, mit Sand vermischt, oder verascht und nachher ausgesetzt. Ein kurzes Aussetzen der Wurzeln in drei verschiedene inaktive NaCl-Lösungen musste alle Aktivität von der Oberfläche beseitigen. Die Tatsache, dass, nachdem die Wurzeln 1 Min. einer 1 mM aktiven NaCl-Lösung und 3 mal 0,1 Min. einer inaktiven NaCl-Lösung ausgesetzt worden waren, eine entschiedene Aktivität zurückbehalten wurde (entsprechend 0,06 mM/ml Wurzelsubstanz) zeigte, dass sogar während dieser kurzen Zeit eine ganz bestimmte Menge von Aktivität in die Wurzelzellen permeiert war, stark konzentriert wurde und nicht so schnell wieder beseitigt werden konnte. Wenn die Wurzeln für 10-60 sec. in eine 1 mM aktive NaCl-Lösung getaucht wurden und dann mit dest. Wasser behandelt, blieb immer einige Aktivität zurück. Trotzdem die Resultate noch keine endgültige Bestimmung der Aktivität in Verbindung mit der Oberfläche zulassen, besteht kein Zweifel, dass die Aktivität jedoch die Schätzungen von L u n d e g a r d h weit überschreitet.

In einer anderen Versuchsreihe wurden Wurzelbündel, die vorher mit HCl und dest. Wasser behandelt wurden, für sehr kurze Zeit (15-30 sec.) in eine aktive Lösung von bekannter Konzentration und Aktivität getaucht. Die Aktivität der Lösung wurde nach dem Eintauchen wieder bestimmt und die von den Wurzeln aufgenommene Menge berechnet (wobei unberücksichtigt gelassen wurde, dass eine geringe Menge der Lösung von den Wurzeln verbraucht wurde). Daraufhin wurden die Wurzeln in drei verschiedene Ge-

fässer mit inaktiver 10 mM Salzlösung getaucht, für die Dauer von $\frac{1}{2}$, 1 und 1 Min. Diese Lösungen wurden nachher verdampft und die, von den Wurzeln abgegebene Aktivität bestimmt. Es wurde angenommen, dass beim ersten Eintauchen die in dem Oberflächenhäutchen vereinigte Aktivität vollständig beseitigt worden wäre und durch das inaktive Salz ersetzt, während ein gewisser Teil vom Innern abgegeben sein sollte. Die beim Eintauchen in die 2. und 3. Lösung erhaltene Aktivität sollte praktisch ausschliesslich vom Innern herrühren und davon wurde eine Berechnung über die Verteilung der Aktivität zwischen Oberfläche und dem Innern in der ersten Lösung abgeleitet. Die gesamte Aktivität, die von den Wurzeln beseitigt wurde, wurde zum Schluss mit der, von der aktiven Lösung absorbierten Menge verglichen. Wenn auch die Bestimmungen noch ungenau waren, zeigte sich doch die Annahme K r o g h s bestätigt, dass die Anzahl der an der Oberfläche gehaltenen Atome zunimmt mit steigender Konzentration der Aussenlösung, ein Resultat, das sich schwer mit dem von L u n d e g a r d h angenommenen Grundgedanken vereinigen lässt. Der sehr schnelle und ausgedehnte Austausch mit dem Innern der Wurzeln zeigt, dass man es hier mit Organen zu tun hat, die für die Absorption von Ionen in verdünnter Lösung geeignet sind. Sie sind sehr viel durchlässiger, als die gewöhnliche Zelloberfläche und ihre aktive Absorption muss vom Gesichtspunkt des Energieverbrauchs verschwenderisch sein. K r o g h sagt hierzu, dass, obwohl L u n d e g a r d h s Demonstration der Anionenrespiration und der grundlegenden Unabhängigkeit vom Stoffwechsel für die Wurzeln vieler Pflanzen meistens seine Gültigkeit habe, man doch nicht zu weit verallgemeinern dürfte, da innerhalb des Pflanzenreichs wohl viele verschiedene Mechanismen existieren. Doch könnte man sicher annehmen, dass der Ionenabsorptionsmechanismus in Pflanzenzellen im allgemeinen sehr unvollkommen spezialisiert ist. Es wären gewiss zahlreiche Fälle bekannt, wo bestimmte Ionen bevorzugt absorbiert werden (besonders K und NO_3), aber es scheint, dass alle Ionen aufgenommen werden können und bis zu einem gewissen Ausmass in der Pflanze gespeichert, vorausgesetzt, dass die betreffenden Ionen nicht zu giftig sind. Viele seltene Elemente werden auf diese Weise konzentriert, z.B. die Jodide in Meerespflanzen, sowohl höheren Pflanzen als auch Algen, von denen einige Arten sogar eine mehr als 1000fache Konzentration gegenüber derjenigen im Meer-

wasser aufweisen. Grosse Mengen von Ionen werden während des Pflanzenwachstums aufgehäuft und besonders während des Sprossens im Frühling. Trotzdem sieht K r o g h keinen Grund zu der Annahme, dass der wesentliche Prozess aufhört, wenn das Wachstum beendet ist. Die erreichte hohe Konzentration muss aufrechterhalten werden und wenn dies auch in einigen Fällen vielleicht auf Grund einer erworbenen Impermeabilität geschieht, scheint es doch wahrscheinlicher, dass sich ein "steady state" durch aktive Aufnahme für den Verlust durch Diffusion ausbalanciert.

b.) Der Ionenaustausch zwischen tierischen Zellen
und ihrer Umgebung.

Von den so ausserordentlich vielgestaltigen Zelltypen des Tierreichs gibt es nur einige wenige, deren Ionengehalt und Ionenaustausch mit der umgebenden Lösung bekannt ist, am wenigsten ist über den Ionengehalt der Erythrocyten und der quergestreiften Muskelfasern von Säugetieren bekannt. Allgemein sagt K r o g h darüber, dass die totale Ionenkonzentration in fast allen tierischen Zellen die gleiche sein muss, wie die der Umgebung, auf Grund der Wasserdurchlässigkeit und des Dehnungsvermögens der Zellmembran. Zur Aufrechterhaltung einer definitiven Ionenkonzentration im Zellwasser muss in den verschiedenen Zellen irgendein Mechanismus bestehen.

Einige Zellarten, über die experimentelle Ergebnisse vorliegen, sollten hier besprochen werden. In allen K r o g h bekannten Untersuchungen wurde festgestellt, dass die Kalium-Konzentration innerhalb der Zelle höher, häufig sogar bedeutend höher als in der extracellulären Flüssigkeit ist. Dieses Kalium macht einen beträchtlichen und meist unerlässlichen Teil der osmotischen Konzentration, als auch der zur Neutralisation notwendigen Kationen aus. Während des Wachstums der Zelle muss Kalium entgegen dem Konzentrationsgefälle in die Zelle eindringen. Wird es in der Zelle gebunden, muss sowohl die gesamtosmotische, als auch die Kationen-Konzentration erhalten bleiben. Nach K.H. M e y e r soll die Elektronenschale des K-Ions fast die gleiche wie die von Argon sein, auch entsprechend stabil, so dass das K-Ion in der Verbindung mit anderen Molekülen nicht verdeckt werden kann; nur freie K-Ionen sind bekannt.

K r o g h beschreibt im weiteren die Zellarten einiger Protozoen, die Eier von Wassertieren, die Erythrocyten der Säugetiere, die Chorionmembran von Hühnereiern, und die quergestreiften Muskelfasern des Herzmuskels und einiger anderer Organe verschiedener Wirbeltiere, die Riesen-Axonzellen des Tintenfischs und die Haut von Fröschen. Alle diese Fälle scheinen einen aktiven Ionenaustausch zu haben. So hat K r o g h z.B. 1938 bei Untersuchungen der Eier von Merophis und anderen Fischen feststellen können, dass bei den Embryonen, die sich in diesen Eiern befinden, eine graduelle Abnahme des Cl-Gehaltes besteht, während die, die Embryonen im Zellinnern umgebende amniotische Flüssigkeit die Cl-Konzentration des Wassers beibehält. K r o g h nimmt an, dass dies ein graduelles Ersetzen des Cl' durch HPO_4 bedeutet.

Bei Erythrocyten und Muskelzellen hat K r o g h mit Hilfe bereits bekannter Zahlen und Tatsachen das Verhältnis von Volumen / Oberfläche mit einer größtmöglichen Genauigkeit bestimmt. Die Konzentration gewisser Ionen, wie HPO_4 , K und Na ist auch als annähernd konstant bekannt, sowohl im Zellwasser, als auch in der extracellulären Flüssigkeit. In diesen Fällen konnte K r o g h Permeabilitätsbestimmungen mit Hilfe von Isotopen durchführen und in absoluten Einheiten ausdrücken. K r o g h gibt einen Überblick über Untersuchungen von H e v e s y u.a., die eine deutliche oder geringe Durchdringungsfähigkeit für Phosphate bei Erythrocyten und Muskelzellen zeigen konnten. Für Frostmuskeln ergibt eine Berechnung eine Permeabilität $P=2,1 - 1,5 \text{ mal } 10^{-5} \text{ cm/hr}$. K r o g h hält es für wahrscheinlich, dass die Konzentration des anorganischen Phosphors innerhalb und ausserhalb der Zelle im Gleichgewicht ist, dass jedoch innerhalb der Zelle eine Anzahl indiffusibler organischer Phosphate wie Kreatinphosphate, Hexosephosphate u.a. eine Aggregatkonzentration besitzen, die um vieles höher ist als die des anorganischen Phosphors. Von den Erythrocyten wurde auf Grund ihrer Kernlosigkeit angenommen, dass sie zu keiner ausgesprochen vitalen Aktivität fähig wären, was K r o g h als einen Irrtum ansieht.

Zur Bestimmung der Permeabilität muss Volumen und Oberfläche annähernd bekannt sein. Beim Menschen wurden als Durchschnittswerte für Volumen und Oberfläche der Erythrocyten $88,4 \mu^3$ und $134 \mu^2$ berechnet.

Untersuchungen ergaben, dass die Zusammensetzung der Erythrocyten sehr variabel, die von Plasma und Serum eine viel gleichbleibendere ist. K und Na sind innerhalb der Erythrocyten in etwa gleicher Konzentration vorhanden, wie in der extracellulären Flüssigkeit; sie scheinen innerhalb der Zellwand nur als freie Ionen zu existieren und auf beiden Seiten der Zellwand den gleichen osmotischen Druck auszuüben.

Versuche von K r o g h zeigten, dass nach einer Änderung der Anionenzusammensetzung des Plasmas sehr bald eine entsprechende Änderung innerhalb der Erythrocyten auftrat, woraus ersichtlich ist, dass die Erythrocytenmembran für Anionen permeabel ist.

K r o g h nimmt an, dass es sich hierbei um eine passive Permeabilität handelt. Es wurde festgestellt, dass die monovalenten Anionen wie HCO_3^- , Cl^- , sehr viel schneller diffundieren, als die polyvalenten Anionen wie SO_4^{4-} und HPO_4^{4-} .

Weiterhin erscheinen K r o g h die Versuche von H e v e s y und seinen Mitarbeitern wesentlich, in denen die Permeation von Phosphaten mit Hilfe von radioaktivem ^{32}P untersucht wurde. Besonders interessant ist an diesen Arbeiten die Darstellung einer Ionenakkumulation, die nicht durch einen aktiven Transportmechanismus zustande kommt, sondern durch das Freiwerden von Energie aus chemischen Prozessen. Die Phosphate werden in organischen Verbindungen gebunden; diese Verbindungen sind unbeständig, werden dauernd abgebaut und wieder neu gebildet. Der gesamte Phosphoranteil in den roten Blutkörperchen ist sehr gross, (bei Kaninchen ca. 80 mg% nach H e h n und H e v e s y, 1942), er befindet sich jedoch zum grössten Teil innerhalb organischer Verbindungen (Hexose-Triose- und Adenosintriphosphate etc.). Der organische Phosphor der Erythrocyten ist mit dem des Plasmas etwa im Gleichgewicht, da er sich entsprechend vermehrt, wenn Phosphor dem Plasma hinzugefügt wird. Dieser Prozess dauert allerdings mehrere Stunden, kann aber beschleunigt werden, wenn radioaktiver ^{32}P dem Plasma zugefügt wird. Der radioaktive Phosphor dringt sofort in die Erythrocyten ein und wird dort von den organ. Verbindungen aufgenommen. 1942 konnten H e h n und Hevesy zeigen, dass die Bindung des anorganischen P in den organischen Verbindungen und deren Wiederabbau mit grösserer Schnelligkeit vor sich geht, als die Diffusion des P durch die Membran der Erythrocyten. Es kann sich also um keinen aktiven Ionentransport handeln.

Da bei einigen Säugetieren der Gehalt an Kationen im Plasma und innerhalb der Erythrocyten sehr unterschiedlich zu sein schien, nahm man zeitweise an, dass die Erythrocytenmembran für Kationen impermeabel sei. Verschiedene Versuche bewiesen jedoch das Gegenteil. H e n r i q u e s und O e r s k o y, die bei einem Versuch mit Kaninchenblutkörperchen fanden, dass die leichteren Blutkörperchen einen grösseren Gehalt an K aufwiesen als die schwereren, untersuchten sorgfältig die Veränderungen des K-Gehaltes im Verhältnis zum Alter der Erythrocyten und fanden, dass der K-Gehalt in den jungen Erythrocyten fast immer grösser ist. Es konnte z.B. festgestellt werden, dass nach einer Blutung von ca. 30-60 ccm der Durchschnittsgehalt an Kalium in den Kaninchenerythrocyten von 30,5 mg% kurz vor der Blutung bis zu 380 mg% nach der Blutung anstieg, um nach etwa 2 Tagen allmählich wieder auf seinen normalen Wert zurückzugehen. Dass aber nicht nur die jungen Erythrocyten für Kationen permeabel sind, zeigten Versuche mit radioaktiven K- und Na-Isotopen, die eindeutig eine Kationenpermeabilität für alle Erythrocyten bewiesen, da bei Hinzufügung geringer Mengen radioaktiver Isotopen zum Blut in den ausgewaschenen Blutkörperchen eine ständig wachsende Radioaktivität gefunden wurde. (Versuche von H e v e s y und s. Mitarbeitern).

Bei der Berechnung des Permeabilitätsgrades fand K r o g h für K ziemlich kleine, für Na jedoch bedeutend grössere Zahlen. Es kann sich hierbei also nicht, wie allgemein angenommen wurde, um eine Ionendiffusion durch Poren handeln, da in diesem Falle für K ein weit höherer Diffusionsgrad als für Na hätte gefunden werden müssen. Einen weiteren Gegenbeweis für die Theorie der reinen Porenpermeabilität kann aus der Wirkung erschen werden, die das Blei auf die Erythrocyten hat. Blei verursacht schon in geringen Mengen und in geringer Konzentration eine enorme Zunahme der K-Permeabilität, ohne jedoch einen nachweisbaren Einfluss auf die Na-Permeabilität auszuüben. Dass die Erythrocyten nach Einwirkung von Blei, einem Stoff, der ausschliesslich auf die Membran wirkt, so schnell K verlieren, zeigt, dass K völlig auswechselbar ist und demnach innerhalb der Erythrocyten in Form freier Ionen vorhanden sein muss.

K r o g h meint die Ansicht vertreten zu können, dass es sich bei den Kationen um einen aktiven Transportmechanismus

handelt. Er meint, wenn Kationen einen normalen osmotischen Druck ausüben und sich frei im Blutkörperchenwasser bewegen, wenn weiterhin die Konzentration der einzelnen Ionen sich mehr von der Konzentration ausserhalb unterscheidet als mit dem Donnan-Effect zu erklären ist, wenn endlich die Erythrocytenmembran für diese Ionen permeabel ist, können die Konzentrationsunterschiede nur durch einen aktiven Transport aufrechterhalten werden, so dass wir es in diesem Fall mit einem "steady state" und nicht mit einem Gleichgewicht zu tun haben. Wieweit es sich hierbei um eine aktive K-Aufnahme oder um eine aktive Na-Ausscheidung handelt, kann K r o g h nicht mit Sicherheit feststellen. Er hält es jedoch für wahrscheinlich, dass es sich bei den Erythrocyten im Gegensatz zur quergestreiften Muskelfibrille um eine aktive K-Aufnahme handelt, die bei den jungen Erythrocyten am grössten ist und mit zunehmendem Alter abnimmt.

1940 erbrachte H a r r i s den experimentellen Nachweis eines solchen aktiven Kationentransportes, der 1941 durch Experimente von D a n o w s k i bestätigt wurde. Zu den gleichen Ergebnissen wie D a n o w s k i kam auch K r o g h auf Grund der von ihm durchgeführten Experimente. K r o g h stellte fest, dass bei einem grossen K-Verlust Na an dessen Stelle tritt, um bei einer Erholung der Zelle wieder zu verschwinden. Bei den Erythrocyten des Menschen und bei Kaninchen tritt K bei niedriger Temperatur und bei Fehlen von Glukose aus. Wenn Glukose neu hinzugefügt wird, können sich die Zellen erholen, auch wenn sie vorher durch Blei oder destilliertes Wasser geschädigt wurden. Bei Hinzufügen von Fluorid zeigte sich eine Verzögerung der Glykolyse und ein schnell eintretender Verlust von Kalium, ohne eine Änderung im Zellvolumen.

1943 untersuchte K r o g h den Kationentransport in der Chorionmembran von Eühnereiern. Wenn die Membranen bei einer Temperatur von 38° einer K-freien und Glukose-freien Lösung ausgesetzt wurden, verloren sie K und nahmen Na auf. Bei einer extracellulären Konzentration von 1,6 mM konnte die K-Konzentration des Zellwassers dabei bis auf 50 mM reduziert werden. Wurden solche Membranen in eine Tyrode-Lösung gebracht, die eine höhere Konzentration (bis zu 15 mM) besass und Glukose enthielt, dann absorbierten sie K bis zu einem Grade, dass die äussere Lösung bis auf 1 mM reduziert wurde. Gleichzeitig wurde Na entgegen dem Konzentrationsgefälle ausgeschieden. Bei niedriger Tempe-

ratur (3-7°) verlieren die Membranen K ohne Einfluss durch die äusseren Konzentration. Ein Zuckerverbrauch findet dabei kaum statt. Ohne Sauerstoff ist der Glucoseverbrauch bei ca 38° bedeutend erhöht und die K-Aufnahme in den meisten Fällen verzögert. K r o g h nimmt an, dass diese Prozesse hauptsächlich in den Bindegewebszellen der Chorionmembran vor sich gehen. Wieweit der aktive Prozess ein Ausscheiden von Na oder ein Aufnehmen von K oder vielleicht auch beides ist, konnte er nicht mit Sicherheit feststellen.

Eingehende Untersuchungen hat K r o g h dem Ionenaustausch im Muskelgewebe gewidmet. Einleitend weist er auf die, dem Permeabilitätsvermögen zu Grunde liegende besondere Muskelgewebsstruktur hin. Die osmotisch aktiven Elemente sind hier die Zellen oder Fibrillen, die in Länge und Diameter sehr variieren, im wesentlichen als cylindrisch angesehen werden können mit einem Diameter von durchschnittlich 100μ (50-200 μ). Es bestehen Anzeichen dafür, dass die Diffusion innerhalb der Fibrillen verhindert wird und die doppelbrechenden Elemente, die für die Kontraktilität verantwortlich sind und ca. 60% des Ganzen ausmachen, durch eine Membran von geringer Permeabilität vom Übrigen separiert werden.

Die Fibrillen der quergestreiften Muskeln enthalten einen grossen Überschuss an Kationen über kristalloide Anionen, aber die Summe beider entspricht nahezu der osmotischen Konzentration der Extrazellulärflüssigkeit. Man nimmt an, dass das Anionendefizit durch Kolloid-Proteine ausgeglichen wird.

Für die Untersuchungen der passiven Permeabilität beim Froschmuskel griff K r o g h auf erfolgreiche Versuche von B o y l e und C o n w a y (1941) zurück, die das Verhalten der Fibrillen des M. sartorius vom Frosch in Lösungen mit steigender K-Konzentration beschrieben haben und es als ein einfaches physiochemisches System darstellen. Die Fibrillen sollten dabei Kalium aufnehmen entgegen dem Konzentrationsgrad, begründet durch die Annahme, dass die Fibrillen für Na und grosse Ionen impermeabel sind, für K und Chloride aber permeabel, was auch experimentell bestätigt werden konnte, nach einer Kontrolluntersuchung von K r o g h jedoch nur bei K-Konzentrationen über 12 mM, bei der die Fibrillen irreversibel ihre Erregbarkeit verlieren.

Für Phosphate ergaben die Forschungen von H e v e s y und seinen Mitarbeitern, die K r o g h bereits in dem Kapitel über

den Phosphoraustausch der Erythrocyten erwähnt, ebenfalls eine eindeutige, wenn auch geringe passive Permeation für das Muskelgewebe. Für den Froschmuskel ergab eine Berechnung die Permeabilität von $P = 2,1$ bis $1,5 \text{ mal } 10^{-5} \text{ cm/hr}$. Es ist anzunehmen, dass die anorganische P-Konzentration innerhalb und ausserhalb der Zellen im Gleichgewicht ist. Jedoch verursachen innerhalb der Zelle eine Anzahl organischer undiffusibler Phosphate (Kreatinphosphat, Hexosephosphat etc.) eine um vieles höhere Konzentration als diejenige des anorganischen Phosphors. Wie schon oben erwähnt, sind diese Verbindungen unbeständig; sie werden dauernd abgebaut und wieder neu gebildet, ein Prozess, der durch Hinzufügen von radioaktivem ^{32}P gemessen werden kann und der sich bei einigen Verbindungen, schneller vollzieht, als der Vorgang der Phosphatpermeation. Durch das Freierwerden von chemischer Energie wird hier ein "steady state" aufrechterhalten; der Transport als solcher ist wahrscheinlich ein einfacher Diffusionsprozess. Beim arbeitenden Muskel zeigte sich keine Veränderung in der Permeabilität für Phosphor, während die Permeabilität für Kationen wesentlich zunimmt.

In dem Kapitel über die Permeabilität für Kationen beim ruhenden Muskel führt K r o g h Ratten-Versuche von H e p p e l (1939) an, die zeigen, dass ein Fehlen von K in der Extrazellularflüssigkeit allmählich den K-Gehalt des Muskels reduziert, der teilweise durch Na ersetzt wird, wenn die Ratten einige Wochen mit Kärmer Diät gefüttert werden. H e p p e l zeigt bei seinen Käberaubten Ratten mit Hilfe von ^{24}Na eine Na-Permeabilität der Myofibrillen von $P = 4,6 \text{ mal } 10^{-3} \text{ cm/hr}$, während H e h n und H e v e s y (1941) mit Hilfe von ^{42}K eine K-Permeabilität von $P = 7 \text{ mal } 10^{-4} \text{ cm/hr}$ für den normalen Rattenmuskel fanden und $P = 1,3 \text{ mal } 10^{-4} \text{ cm/hr}$ für den Kaninchenmuskel. Dabei ist der K-Austausch in den Muskelfibrillen nicht auf die vollständige Ergänzung gerichtet, sondern kommt offensichtlich zu einem Stillstand, wenn durchschnittlich ca. 40% des gesamten K-Gehaltes ausgewechselt ist. K r o g h ist der Ansicht, dass man die Berechnung der Plasmaaktivität zu sehr vernachlässigt hat und deshalb eine ungenaue Permeabilitätsbestimmung erhält. Die Plasma-Aktivität hält er für zu niedrig bestimmt, der Permeabilitätsgrad wird dadurch sowohl in seinem Experiment, als auch in demjenigen von H e p p e l überschätzt. K r o g h fand einen Permeabilitätsgrad, der 35 mal niedriger war, als der von H e p p e l für Na gefundene.

Über die Veränderung der Permeabilität beim tätigen Muskel führt K r o g h zahlreiche Experimente an, die schon in den 30er Jahren von F e n n, C o b b, M a n e r y und B l o o r u.a. durchgeführt wurden und eindeutig zeigten, dass beim kontrahierten Muskel die Ionen-Permeabilität zunimmt. Die Fibrillen verlieren konstant K und gewinnen Na. Im einzelnen konnte in diesen Experimenten gezeigt werden, dass der K- und Na-Austausch unabhängig von Änderungen im Wasser- und Milchsäuregehalt vor sich geht und dass der K-Verlust allein vom Kontraktionsvorgang abhängt. Experimente von T i p t o n zeigten am Katzenmuskel, dass der Verlust von K und die entsprechende Aufnahme von Na während 3 Stunden andauern konnte und 30% des Gesamtgehaltes verbraucht wurde. H e p p e l zeigt im Bewegungsversuch bei seinen Ratten, dass der K-Gehalt sogar bis auf 36% des Ruhewertes absank. Dies beruht oder ist vergesellschaftet mit einer zunehmenden Permeabilität, die von H a h n und H e v e s y bei schwimmenden Ratten demonstriert und gemessen wurde, nachdem radioaktives K injiziert worden war. Während die konstante Fibrillenpermeabilität bei in Ruhe befindlichen Ratten mit $P = 7$ mal 10^{-4} cm/hr berechnet wurde, ergab eine entsprechende Permeabilitätsbestimmung bei schwimmenden Ratten $P = 23$ mal 10^{-4} cm/hr. Andererseits zeigte sich, dass der restliche Gehalt von ca. 40% selbst durch forciertes Schwimmen während 6 Stunden nicht ausgetauscht wurde.

Veränderungen der Ionenzusammensetzung, wie sie durch Arbeit etc. hervorgerufen werden, zeigten sich immer als reversibel. Der Erholungsprozess bestand in einer Aufnahme von K und Eliminierung von Na entgegen dem Konzentrationsgefälle. K r o g h betont, dass diese Versuche keinen a k t i v e n K-Transport annehmen lassen, ein aktiver Na-Transport von innen nach aussen genügt und scheint in vielen Fällen den Na-Gehalt der Fibrillen auf niedrigem Stand zu halten. Dadurch erübrigt sich ein spezieller Mechanismus.

Es erscheint K r o g h sehr bemerkenswert, dass Froschmuskelfibrillen, die irreversibel geschädigt werden, gleichzeitig Na-undurchlässig werden, wie der Versuch von B o y l e und C o n w a y zeigte.

K r o g h nimmt in Übereinstimmung mit L u n d e g a r d h s Konzeption an, dass die, für den Na-Austausch verantwortlichen speziellen Micellen auf irgend eine Weise gehindert werden, wenn die Erregbarkeit erlischt.

1944 führte K r o g h und seine Mitarbeiter ausführliche Analysen durch über die Ionenzusammensetzung des Herzmuskels vom Frosch und Vergleiche mit dem Serum. Das Muskelfibrillenwasser des Froschherzens enthält insgesamt eine ca. 200 mM Kationenkonzentration, die 82 mM K und nur 3-7 mM Ca enthält, von denen darüberhinaus wahrscheinlich ein grosser Teil nicht in Lösung ist. Die Cl-Konzentration ist ungefähr 40 mM und die gesamte Phosphatkonzentration (organ. und anorgan.) 70 mM. Die Kationenkonzentration ist damit wesentlich höher als die Konzentration des Serums. K r o g h nimmt an, dass der Anionendefizit, wie beim Skelettmuskel, durch eine Verbindung der Kationen mit Proteinen ausgeglichen wird, so dass sich praktisch der Kationenüberschuss nicht auf den osmotischen Druck auswirkt. Versuche zur Bestimmung der Chloride haben gezeigt, dass ein grosser Teil Chlor nach aussen diffundieren kann, wenn in der Durchspülungsflüssigkeit Cl durch Nitrate substituiert wird. Die Kalium-Bestimmungen von K a h n und H e v e s y (1941) ergeben, wie erwartet, einen viel schnelleren Kalium-Austausch beim Kaninchenherzen als beim M.gastrocnemius, da der Herzmuskel dauernd arbeitet. Der nach 48 Stunden gemessene Kalium-Austausch ist jedoch der gleiche wie beim Skelettmuskel und nur 30% des gesamten. Ein ähnlicher Versuch, den K r o g h an isolierten Froschherzen anstellte, ergab einen Austausch von 2/3 des gesamten Kalium innerhalb 6 Stunden. Wenn das Herz mit K- und Ca-freier Ringerlösung durchspült wird, kann K bis auf ein Drittel oder weniger reduziert werden und durch Na ersetzt, dabei kommt das Herz aber langsam zum Stillstand. Ebenso wird der geringe Ca-Gehalt teilweise weggeschafft. Dieser Auswaschungsprozess ist reversibel bis zur vollständigen Wiederherstellung der Kontraktibilität, wenn der K- und Ca-Entzug nicht zu weit ging. Der K-Entzug oder die aktive Absorption zeigte sich nicht im Zusammenhang mit dem Vorhandensein oder Fehlen von Glukose. Nach der Ansicht K r o g h s wird das K/Ca-Gleichgewicht, das für die Kontraktibilität des Herzmuskels verantwortlich ist, durch Ionen bewirkt, die an der Zelloberfläche "absorbiert" sind, die aber sowohl von aussen, wie vom Zellinneren her ergänzt werden können. Im Falle des K ist die Wiederherstellung verzögert durch die, durch die Zelloberfläche hindurchgehende Ionenwanderung. Beim Ca geschieht die Ergänzung von aussen her fast augenblicklich, während sie vom Zellinneren her sehr langsam ist. Dadurch treten

Änderungen im K-Gleichgewicht erst allmählich in Erscheinung, während sich die Änderungen des Ca-Gleichgewichtes sofort zeigen. Auf Grund dieser Versuche hält es K r o g h jedoch noch nicht für geklärt, ob nur eine aktive Na-Elimination für den Ionenaustausch beim Froschherzen verantwortlich ist, oder ob eine aktive K-Absorption als notwendig angenommen werden muss.

1944 führten K r o g h und L i n d b e r g einige spezielle Experimente durch, die die Beobachtungen von S a k e i (1913) bestätigten, wonach das Froschherz mit einer Lösung, in der 75% des Na-Gehaltes durch Glukose ersetzt ist noch arbeiten kann. In diesem Fall tritt ein beachtlicher und reversibler Na-Austausch ein. Der grösste Teil des Na wird aus dem Zellinnern in die Spülflüssigkeit abgegeben. Nach Wiedereinführung in normale Ringerlösung gibt das Herz die Glukose wieder ab und nimmt Na auf; dabei konnte das normale Gleichgewicht nicht mehr ganz hergestellt werden.

Abschliessend führt K r o g h noch zwei Gewebsanalysen an, die interessante Resultate zeitigten. S t e i n b e c h führte 1941 Cl-Bestimmungen bei den Riesenaxonzellen der Tintenfische durch, die so gross sind, dass vollständige Inhaltsanalysen wie bei Pflanzenriesenzellen angestellt werden können. Es zeigte sich dabei ein Cl-Transport aus dem Innern in die Umgebung entgegen einem Konzentrationsgefälle. S t e i n b e c h folgert aus diesen Untersuchungen in völliger Übereinstimmung mit K r o g h, dass die Annahme eines "steady state", der eindeutige Diffusionskräfte besitzt, die einzig mögliche Erklärung ist. Das Chlorid-Gleichgewicht der Zellen müsse daher als ein Teil des allgemeinen Mechanismus angesehen werden, der für die selektive Verteilung der Ionen verantwortlich ist. Wenn schon gezeigt werden konnte, dass eine Zelle Cl oder ein anderes Ion in irgendeinem Stadium aufnimmt, ohne gleichzeitig zu einem vollständigen Gleichgewicht mit der Konzentration der Umgebung zu gelangen, so folgert S t e i n b e c h mit K r o g h daraus, dass es eine unnötige Forderung sei, anzunehmen, die Zelle würde in einem anderen Stadium mit einer impermeablen Membran umgeben. Aktive Kräfte müssen während jeder permeablen "Phase" am Werk sein und die Notwendigkeit des Vorhandenseins solcher Kräfte gilt es zu erkennen.

Von H o a g l a n d und R u b i n konnte an der Froschhaut gezeigt werden, dass schwache mechanische Reizung in rascher Reihenfolge (140mal pro sec.) die Reaktion der Nervenendorgane hemmt. Gewebsanalysen ergaben, dass grosse Mengen Kalium aus den, die Nervenendorgane umgebenden Epithelzellen freigemacht wurden, während die anderen Ionen in ihrer Zusammensetzung vor und nach der Reizung unverändert blieben. Die Bestimmungen über den Ionengehalt in der Froschhaut, die R u b i n nur für das nasse Gewicht durchgeführt hatte, ergänzte K r o g h noch durch genaue Bestimmungen der Trockensubstanzen. Danach enthält 1 kg Gewebsflüssigkeit der Froschhaut, gemessen in mM: 41 K, 48 Na, 92 Ca, 59 Cl und 132 P. Bezüglich der erwähnten K-Ausschwemmung nimmt K r o g h an, dass dieses Kalium durch einen aktiven Prozess den Epithelzellen wieder zugeführt wird. Abschliessend bemerkt K r o g h, dass die Tatsache eines aktiven Ionentransportes beim Studium des normalen Zellenwachstums allgemein in Erscheinung treten wird, wenn die Forschung in diesem Sinne fortgesetzt wird.

VIII. N a c h w o r t.

Nur wenige Tage nach Beendigung dieser Arbeit kam die Nachricht vom Tode August Kroghs. Er starb am 13. September 1949 im Alter von 74 Jahren in Kopenhagen. Seinem Wunsche gemäss wurde die Nachricht von seinem Tode erst nach der Beisetzung, die in aller Stille stattfand, bekanntgegeben.

Außer in seiner Heimat Dänemark wurde in diesen Tagen in vielen Ländern und besonders in England seiner und seines großen Lebenswerkes gedacht.

Trotz schwerer Krankheit arbeitete Krogh bis zu seinem Tode unermüdlich in seinem Laboratorium in Gentofte bei Kopenhagen. Seine Forschung galt in seiner letzten Lebenszeit im besonderen der Physiologie der Insekten. Diese Forschung verspricht bereits eine wesentliche Erweiterung des physiologischen Wissens. Auch deshalb wird die Wissenschaft den Tod August Kroghs zu beklagen haben, durch den ihr nicht nur seine umfassende Erfahrung, sondern auch sein grosses intuitives Genie verloren geht.

IX. Literatur-Verzeichnis.

Barbour	1921	Physiol.Reviews,1,295.
Barger & Dale	1911	Journ.Physiol.41,499.
Bayliss	1901	Journ.Physiol.26,173.
	1902	Journ.Physiol.28,276,und 220-231.
	1916	Journ.Physiol.50,23
	1919	Journ.Pharm and Exper.Ther.15,29.
Bier, Ar.	1897	I.Arch.f.pathol.Anat.u.Physiol. 147,256,444.
	1898	II.Arch.f.pathol.Anat.u.Physiol. 153,306.
Boyle & Conway	1941	J.Physiol.100,1.
Chauveau & Kaufmann	1887	C.R.104,1126.
Cohnheim	1867	Arch.f.pathol.Anat.40,1-80.
Collander	1930	Acta bot.fenn.6,1.
	1936	Protoplasma,25,201
	1937	Ber,dtsch.Bot.Ges.55, 74.
	1939	Protoplasma,33,215.
	1941	Tabul.biol.Berl.19, 313.
Cotton, Glade & Lewis	1917	Heart,6,227.
Dale & Laidlaw	1919	Journ.Physiol.52,355.
Dale & Richards	1918	Journ.Physiol.52,110.
Danowski	1941	J.Biol.Chem.139,693.
Doi	1920	Journ.Physiol.54,227.
Donnan	1924	Chem.Rev.1,73.
Drinker	1927	Journ.Physiol.63,249-269.
Döllinger	1821	Denkschr.d.K.Akad.d.Wiss.München.
Ebbecke	1917	Pfl.Arch.169,1-81.
Ebbecke	1923	Pfl.Arch.199,197-216.
	1923	Ergebn.d.Physiol.22,401-494.
Feldberg	1927	Journ.Physiol.63,211-216.
Fenn,Cobb,Manery & Bloor	1937	Amer.J.Physiol.121,595.
Finsen	1900	Mitteilgn.a.Finsens Lichtinsti- tut, 1.
Grosser	1902	Arch.f.mikr.Anat.u.Entw.60,191.

- Hahn & Hevesy 1941 Acta Physiol.Scand.k.347 u.2,51.
1942 Acta Physiol.Scand.3,193.
- Harris 1940 Biol.Bull.Woods Hole,79,373.
- Hastings 1820 London 1820.
- Heimberger 1925 Zeitschr.f.d.ges.exp.Med.46,
519-557 u.48,179-184.
1926 Zeitschr.f.d.ges.exp.Med.49,
411-426, 51,112-123.u.53,107-120.
1927 Zeitschr.f.Zellforsch.u.mikr.Anat.
4,713.
1927 Zeitschr.f.d.ges.exp.Med.55,17-24.
- Henriques & Ørskov 1936 Skand.Arch.Physiol.74,63 u.78.
- Heppel 1939 Amer.J.Physiol.127,385 u.128,
440 u.449.
- Heubner 1907 Arch.f.exp.Path.u.Pharm.56,370.
1925 Arch.f.exp.Path.u.Pharm.107,
129-154.
- Hevesy & Hahn 1940 K.danske vidensk.Selsk.Biol.Medd.
15,7.
1941 K.danske vidensk.Selsk.Biol.Medd.
16,1.
Hevesy, Hahn & Rebbe 1941 K.danske vidensk.S.Biol.Medd.16.8.
Hevesy & Rebbe 1940 Acta Physiol.Scand.1,171.
- Hoegland & Rubin 1936 J.Gen.Physiol.19, 939.
- Holm-Jensen, Krogh
& Martiovaara 1944 Acta bot.fenn.36,1.
- K r o g h, A. 1904 The tension of carbonic acid in
natur.waters.Medd.om Grønland,
26,333-405.
1904 The cutaneous and pulmonary respi-
ration of the frog.Skand.Arch.
Physiol.15,328-419.
1904 Some experiments on the cutaneous
respiration of vertebrate animals.
Skand.Arch.Physiol.16,348-357.
1906 Ausscheidung von freiem Stickstoff:
im Organismus.Sitzungsber.Kais.
Akad.Wiss.X CXV.
1908 Prinzipien der exakten Respirati-
onsversuche. Biochem.Zeitschr.7.
1912 The regulation of the supply of
blood to the right heart.Skand.
Arch.Physiol.27,227

- Krogh, A.
- 1913 The composition of the air in the tracheal system of some insects. *Skand. Arch. Physiol.* 29, 29-36.
- 1914 Ein Mikrorespirationsapparat. *Biochem. Zeitschr.* LXII.
- 1914 The quantitative relation between temperature and standard metabolism in animals. *Int. Zeitschr. f. physiol. chem. Biol.* I, 491-508.
- 1914 Ethyl urethane as a narcotic for aquatic animals. *Int. Revue f. Hydrobiol.* 6, 42-47.
- 1916 Respiratory exchange of animals and man.
- 1918 Vævenes Forsyning med Ilt og Kapillærkredsløbets Regulering. *Danske Vid. Selsk. Biol. Medd.* I, No 6.
- 1919 The composition of the atmosphere. *K. danske Vid. Selsk. Math. fys. Medd.* 1, 3-19
- 1919 The rate of diffusion of gases through animals' tissues, with some remarks on the coefficient of invasion. *Journ. Physiol.* § 52, 391-408.
- 1919 The supply of oxygen to the tissues and the regulation of the capillary circulation. *Journ. Physiol.* 52, 457.
- 1920 Studien über Tracheenrespiration, über Gasdiffusion in den Tracheen und die Kombination von mechanischer Ventilation mit Gasdiffusion nach Versuchen an *Dytiscus*larven. *Pfl. Arch.* 179, 95-112, 113-120.
- 1920 Studies on the physiology of capillaries. I. The reaction to stimuli and the innervation of the blood vessels in the tongue of the frog. *Journ. Physiol.* 53, 399.
- 1921 Fortsatte Studier over Kapillærernes Fysiologi. *Danske Vid. Selsk. Biol. Medd.* 3, No 3.
- 1921 Studies on the physiology of capillaries. II. The reaction to local stimuli of the blood vessels in the skin and web of the frog. *Journ. Physiol.* 55, 412
- 1922 The Anatomy and Physiology of Capillaries. Yale Press.

- K r o g h, A.
- 1924 Anatomie und Physiologie der Capillaren. Springer.
- 1924 Insulin. En Opdagelse og dens Betydning. Univ. Progr. København.
- 1926 The pituitary (posterior lobe) principle in circulating blood. Journ. Pharm. and exp. Therap. 29, 177-189.
- 1928 The assay of Insulin on rabbits and mice. K. danske vidensk. Selsk. Biol. Medd. 7, 6.
- 1929 The Anatomy and Physiology of Capillaries. Revised Edition. New Haven.
- 1938 Z. vergl. Physiol. 25, 335.
- 1938 Skand. Arch. Physiol. 80, 214.
- 1939 Osmotic Regulation in Aquatic Animals. Cambridge University Press.
- 1941 The comparative physiology of respiratory mechanisms. University of Pennsylvania. Philadelphia Press.
- 1943 Acta Physiol. Scand. 6, 203.
- 1946 The active and passive exchange of inorganic ions through the surfaces of living cells and through living membranes generally. Croonian Lecture
- Krogh, A. & Lindhard 1913 The regulation of respiration and circulation during the initial stages of muscular work. Journ. Physiol. 47, 113-136.
- Krogh, A. & Leitch 1919 The respiratory function of the blood in fishes. Journ. Physiol. 52, 288-300.
- Krogh, A. & Lindhard 1920 The changes in respiration at the transition from work to rest. Journ. Physiol. 53, 431-439.
- Krogh, A. & Harrop 1921 On the substance responsible for capillary tonus. Proc. Physiol. Soc. Journ. Physiol. 54
- 1921 Some observations on stasis and edema. Proc. Physiol. Soc. Journ. Physiol. 54.

- Krogh, A., Harrop & Rehberg 1922 Studies on the physiology of capillaries. III. The innervation of the blood vessels in the hind legs of the frog. Journ. Physiol. 56, 179.
- Krogh, A. & Rehberg 1922 Sur l'influence de l'hypophyse sur la tonicité des capillaires. C.R.Soc. Biol. 87, 461.
- 1924 Kinematographic methods in the study of capillary circulation. Amer. Journ. Physiol. 68, 153-160.
- 1927 The active relaxation of capillaries and venules in "reflex flare". Proc. Journ. Physiol. 64.
- Krogh, A. & Nakazawa 1927 Beiträge zur Messung des kolloid-osmot. Druckes in biolog. Flüssigkeiten. Biochem. Zeitschr. 188, 241-258.
- Krogh, A. und Spærk 1936 On a new bottom sampler K.danske vidensk.Selsk. Biol. Medd. XIII.
- Krogh, A., Hevesy u. Holst 1937 Exchange of phosphorus in teeth. K.danske vidensk.Selsk. Medd. XIII, 13
- Krogh, A. u. Ussing 1937 A note on the permeability of trout eggs to D₂O and H₂O. J. exp. Biol. 14, 35-37.
- Krogh, A., Zeuthen & Schmidt-Nielsen 1938 Zentr. Vergl. Physiol. 26, 230.
- Krogh, A., u. Zeuthen 1940 The mechanisms of flight preparation in some insects. J. exp. Biol.
- Krogh, A. u. Lindberg 1944 Acta Physiol. Scand. 7, 238.
- Krogh, A., Lindberg & Schmidt-Nielsen 1944 Acta Physiol. Scand. 7, 221.
- Krogh, M. 1915 The diffusion of gases through the lungs of men. Journ. Physiol. 49, 271.
- Landis 1926 Amer. Journal 75, 548-571.
- Landis 1927 Amer. Journ. Physiol. 81, 124-142, 82, 217-238.
- 1928 Amer. Journal Physiol. 83, 528-542.

- Landsberg 1921 Wien.Arch.f.Inn.Med.3,467.
- Langley 1900 On Axon reflexes in the preganglionic fibers of the sympathetic N.S. Journ.Physiol.25,364-398.
- 1921 The autonomic N.S. I.Cambridge
- Lewis, Grant u.Marvin 1927 Haert, 14,139-160.
- Lombard 1912 Amer.Journ.Physiol.29, 335.
- Lundegaardh 1937 Biochem.Z. 290,140.
- 1940 Ann.Agric. Coll.Sweden, 8, 234.
- 1940 Nature, 145,114.
- 1941 Protoplasma, 35, 548.
- 1943 Ark.Bot., 31 A, No.2.
- Mall 1887 Abh.d.sächs.Ges.d.Wiss.M.ph.Cl. 14,153.
- Mayer, S. 1902 Anat.Anz., 21,442.
- Meyer 1937 Trans.Faraday Soc. 33,1056.
- Müller, L.R. 1913 Deutsch.Zeitschr.f.Nervenheilk.47-48, 413-435.
- Nielsen, M. 1936 Untersuchungen über die Atemregulation beim Menschen besonders im Hinblick auf die Art des ehem.Reizes. Scand.Arch.Physiol.Suppl.No.10,74,87-208.
- 1936 Die Respirationsarbeit bei Körperruhe und bei Muskelarbeit. Scand.arch.physiol.74,299-315.
- Osterhout 1933 Ergebn.Physiol.Exp.Pharm.35,967.
- 1936 Bot.Rev. 2, 283.
- Parrisius 1921 Deutsch.Zeitschr.f.Nervenheilk.72,310.
- Philip, A.W. 1804 Leipzig 1804
- 1817 London.Third.Edition 1826
- Rouget 1873 C.R. 79, 559.
- 1879 C.R. 88, 916.
- Roy, W., Graham Brown 1879 Journ.Physiol. 2, 323.

- Sakai 1913 Z. Biol. 62, 295.
- Schaly 1926 Dissert. Groningen. 1-72
- Steinach u. Kahn 1903 Pfl. Arch. 97. 105.
- Steinbach 1937 J. Cell. Comp. Physiol. 9, 429.
1940 J. Biol. Chem. 133, 695.
1941 J. Cell. Comp. Physiol. 17, 57.
- Stricker 1865 Sitz. Ber. d. Wieber Akad. d. Wiss. M-N. Kl. 52, 2 Abt. 379.
1879 Sitz. Ber. d. Wiener Akad. d. Wiss. M-n. Kl. 74, 3 Abt. 313.
- Sörensen 1915-1917 Proteinstudier. Medd. fra Carlsberg Lab. 12.
- Tipton 1938 Amer. J. Physiol. 124, 322.
- Vintrup, B. 1922 Zeitschr. f. d. ges. Anat. 65, 150.
1923 Zeitschr. f. d. ges. Anat. 68, 469-482.
1926 Über die malpighischen Körperchen der menschl. Niere. Physiol. Papers. Dedicated to Prof. A. Krogh, Copenhagen
1928 Danske Vidensk. Selsk. Biol. Medd. 7, 1-36.
1928 Amer. J. Anat. 41, 123-151.
- Visscher u. Ingraham 1936 Amer. J. Physiol. 114, 676.
1938 Amer. J. Physiol. 121, 771.
- Visscher u. Peters 1939 J. Cell. Comp. Physiol. 13, 51.
- Visscher u. Dennis 1940 Amer. J. Physiol. 129. 176. und 131, 407.
- Wedemeyer 1828 Hannover.
- Wernöe, 1920 Ugeskrift for Laeger 82, 1415.
1925 Pfl. Arch. 210, 1-34.
1926 Physiol. Papers, dedicated to Prof. Krogh, Copenhagen.
1927 Acta Psych. et. Neur. 2, 385.
- Zak 1922 Wien Arch. f. Inn. Med. 4, 209-234.
- Zimmermann 1923 Zeitschr. f. Anat. u. Endwickl. 68, 29-109.

L e b e n s l a u f

Ich wurde am 17. Juli 1917 in Graasten/Dänemark als Tochter des praktischen Arztes Dr.med.Nis Peter Nielsen und seiner Ehefrau Margarete geb. Leopold geboren. Von 1924-1932 besuchte ich die deutsche Privatschule in Graasten und von 1932-1937 das Oberlyzeum in Flensburg, wo ich 1937 die Reifeprüfung bestand. Im Herbst 1937 ging ich nach München, um dort zwei Semester Philologie und ein Semester Medizin zu studieren. Das Medizinstudium setzte ich in Kiel, Jena, Hamburg und Heidelberg fort. Im Sommer 1944 absolvierte ich in Heidelberg mein Staatsexamen. Danach kehrte ich nach Dänemark zurück, von wo ich nach der Kapitulation nicht nach Deutschland zurückkommen konnte, wie ich beabsichtigt hatte. In Dänemark arbeitete ich einige Zeit in einem Flüchtlingskrankenhaus und von 1947 bis zum Dezember 1948 war ich in der Schweiz in verschiedenen Krankenhäusern tätig.

- - - - -

Zum Schluß möchte ich Herrn Professor Dr. F. H a f f n e r für die Themastellung und die Förderung der Arbeit meinen herzlichsten Dank aussprechen.