Über die Menge der Lipide im Blutplasma von Knochen- und Knorpelfisch und die Stärke der Pjs-SCHIFF-Reaktion des Knorpels und seiner Metachromasie mit Toluidinblau.

硬骨魚と軟骨魚の血漿の類脂質の量と軟骨の過ヨード酸 Schiff 反応とトルイデン青での異調染色の強さに就いて.

Mikio TOKUDA 徳田 幹夫.

(Eingegangen am 30. Juni 1957.)

Die Chondroitinschwefelsäure findet sich bekanntlich sehr reichlich in der Grundsubstanz des hyalinen Knorpels. Darauf, daß die dem Tier einverleibte Chondroitinschwefelsäure, wie das ihr ähnlich konstruierte Heparin, auch den Gehalt des Blutes an Cholesterin herabsetzt und auf die Arteriosklerose eindämmend wirkt, wurde neulich von KURITA (1955) hingewiesen. Ferner soll nach der Untersuchung von DAY u. a. (1956) die Injektion von Toluidinblau in die Unterhaut des Kaninchens eine Vermehrung von Fettsäure, Phospholipide, Cholesterol u. a. zur Folge haben, weil wahrscheinlich der Farbstoff sich mit dem zirkulierenden Heparin verbindet oder aber die heparinproduzierenden Mastzellen angreift, so daß sich Menge des Heparins im Tierkörper herabsetzt. In vorliegender Arbeit wurde die Menge der Lipide im Blutplasma von Knorpelfischen mit knorpeligem Skelet und von Knochenfischen nahezu ohne Knorpelgewebe vergleichend untersucht. Ferner wurden die Stärke der Perjodsäure-SCHIFF-Reaktion des Knorpels und die der Metachromasie desselben mit Toluidinblau beobachtet.

I. Material und Methode.

Als Versuchsmaterial dienten folgende Knochenfische: *Mngil cephalus* (マボラ), *Sparus swinhonis* (クロダイ), *Anguilla japonica* (ウナギ), *Astroconger myriaster* (マアナゴ), *Paralichthys olivaceus* (ヒラメ), *Lateolabrax japonicus* (スズキ), *Sawara nipponia* (サワラ), *Acanthogobius flavimanus* (マハゼ), *Nibea mitsukuri* (ニベ), und folgende Knorpelfische: *Cynias manzo* (ホシザメ), und *Dasyatis akajei* (アカエイ). Man entnahm das Blut durch Herzpunktion, und die Bestimmung der Lipide im Blutplasma vollzog sich nach der vom Verfasser (1956) angewandten Methode unter Benutzung von mittelstark polarem Viktoriablau. Die gefundene Lipoidmenge wurde in relativem Wert ausgedrückt, bezogen auf den des normalen Plasmas des Menschen, welcher als 100 angenommen wurde.

Man nahm ferner den Zungenknorpel, Unterkieferknorpel (MECKEL-schen Knorpel), den Flossenträger der Rückenflosse und die Zwischenwirbelscheibe aus dem Knochenfisch *Paralichthys olivaceus* (ヒラメ) und dem Knorpelfisch *Dasyatis akajei* (アカエイ) von etwa gleicher Größe und Form, sowie von dem Knochenfisch *Sawara niphonia* (サワラ) und dem Knorpelfisch *Cynias manzo* (ホンザメ) ebenfalls von ungefähr gleicher Größe und Form. Das Material wurde in 10%igem Formalin fixiert, um Gefrierschnitte von 20 μ Dicke zu bekommen. Auf den Schnitten wurde dann die Perjod-säure-SCHIFF-Reaktion (kurz: Pjs-SCHIFF-Reaktion) nach der LILLIE-schen Methode durchgeführt. Auch wurden die Schnitte auf die Metachromasie mit Toluidinblau in Verwendung von 0.2%iger wässriger Farblösung von pH 2.5 geprüft.

II. Ergebnisse der Untersuchung.

A. Menge der Lipide im Blutplasma.

Das Ergebnis der Bestimmung der Lipide im Blutplasma ist in Tabelle 1 zusammengestellt. Bemerkenswert ist, daß die Menge der Lipide im Blutplasma bei den Knochenfischen immer mehr als 200 (durchschnittlich 225) beträgt, aber die bei den Knorpelfischen immer weniger als 100, (durchschnittlich 70). Die Lipoidmenge ist also bei den Knochenfischen etwa 3mal größer als die bei den Knorpelfischen.

Konzentration der Lipide in der Blutplasmaverdünnung nach der Filtration durch das mit Viktoriablauf gefärbte Filtrierpapier, bezogen auf den normalen Wert des Menschen, welcher = 100 gesetzt ist.

		Zahl d. Exemplare	Relative Kon- zentration i. M.
Knochenfische	Mugil cephalus	5	219
	Sparus swinhonis	3	257
	Anguilla japonica	5	211
	Astroconger myriaster	4	221
	Lateolabrax japonicus	4	239
	Paralichthys olivaceus	3	228
	Sawara niphonia	2	220
	Acanthogobius flavimanus	5	215
	Nibea mitsukurii	2	217
Knorpel- fische	Dasyatis akajei	5	63
	Cynias manzo	5	80

B. Pjs-SCHIFF-Reaktion der Knorpel.

- a) *Paralichthys olivaceus* (ヒラメ) (Knochenfisch) und *Dasyatis akajei* (アカエイ) (Knorpelfisch).

1. Zungenknorpel (Abb. 1).

An der Spitze des Zungenknochens dieses Knochenfisches bleibt der Knorpel. Die Pjs-SCHIFF-Reaktion der Knorpelgrundsubstanz dieses Knorpels ist weitaus schwächer als die des Knorpelfisches. Der Zungenknorpel des Knorpelfisches zeigt die typische Struktur des hyalinen Knorpels, und ihre Grundsubstanz gibt eine sehr starke Pjs-SCHIFF-Reaktion. Die in Abb. 1 parallel liegenden zwei Knorpelschnitte wurden auf demselben Objektglas aufgeklebt und gleichzeitig der Pjs-SCHIFF-Reaktion unterzogen, damit man ein einwandfreies Kontrastbild bekäme.

2. Unterkieferknorpel (Abb. 2).

Der Unterkieferknorpel, den man auch MECKELschen Knorpel nennt, bleibt bei den Knochenfischen im allgemeinen stabartig auf der medialen Seite des Zahnknochens. Der MECKELsche Knorpel des vorerwähnten Knochenfisches ist reich an Zellen, dagegen arm an Grundsubstanz. Die Pjs-SCHIFF-Reaktion der Grundsubstanz tritt bei dem Knorpelfisch in weitaus stärkerem Maß auf als bei dem Knochenfisch.

3. Knorpel des Flossenträgers (Abb. 3).

Ein Flossenträgerstück der Rückenflosse des genannten Knochenfisches besteht aus Knorpel. Die Pjs-SCHIFF-Reaktion tritt stärker beim Knorpelfisch auf als beim Knochenfisch.

4. Zwischenwirbelscheibe.

Die Zwischenwirbelscheiben sind Reste der Rückensaite und bestehen bei beiden Fischen aus einem chondroiden Gewebe. Ihre Grundsubstanz ist dünn und erscheint netzartig. Die Pjs-SCHIFF-Reaktion erfolgt auch hier beim Knorpelfisch beträchtlich stärker als beim Knochenfisch.

- b) *Sawara niphonia* (サワラ) (Knochenfisch) und *Cynias manzo* (ホシザメ) (Knorpelfisch)

1. Zungenknorpel (Abb. 4).

Die Pjs-SCHIFF-Reaktion der Grundsubstanz des Zungenknorpels tritt beim Knorpelfisch auffallend stärker auf als beim Knochenfisch.

2. Unterkieferknorpel (Abb. 5).

Die Pjs-SCHIFF-Reaktion der Grundsubstanz des Unterkieferknorpels setzt ebenfalls beim Knorpelfisch beträchtlich stärker ein als beim Knochenfisch.

3. Knorpel des Flossenträgers.

Es wurde beim genannten Knochenfisch der Gelenkknorpel eines Flossenstrahls der Rückenflosse an der Ansatzstelle an seinem Flossenträger untersucht. Die Pjs-SCHIFF-Reaktion der Grundsubstanz dieses Knorpels

tritt beim Knorpelfisch ein wenig stärker auf als beim Knochenfisch.

4. Zwischenwirbelscheibe.

Die Zwischenwirbelscheibe besteht bei beiden Fischen aus chondroidem Gewebe, dessen zwischenzellige Grundsubstanz in den Schnitten reticular aussieht. Die Pjs-SCHIFF-Reaktion der Grundsubstanz ist beim Knorpelfisch beträchtlich stärker als beim Knochenfisch.

C. Metachromasie mit Toluidinblau der Knorpelgrundsubstanz.

Bei der Färbung des Knorpels mit 0.2%igem Toluidinblau bei pH 2.5 erscheint die Knorpelgrundsubstanz von allen vorgenannten Fischen (von zwei Knochen- und zwei Knorpelfischen) immer metachromatisch rotviolett, wobei aber bei den Knorpelfischen immer ein etwas stärkerer rötlicher Ton beobachtet wird. Die Grundsubstanz der Zwischenwirbelscheibe des *Paralichthys olivaceus* (ヒラメ) und *Sawara niphonia* (サワラ) (beides Knochenfische) bietet keine Metachromasie.

III. Auswertung.

Früher hat WATANABE (1941) die Lipoidmenge im Blutplasma von verschiedenen Tieren chemisch bestimmt. Aus den von ihm angegebenen Daten ersieht man, daß die Lipoidmenge bei den Knorpelfischen auffallend gering, dagegen bei den Knochenfischen beträchtlich größer ist. Auch nach meiner Methode unter Anwendung von Viktoriablau erweist sich die Lipoidmenge im Blutplasma von Knochenfischen als sehr groß. Das Gleiche ist auch bei *Acanthogobius flavimanus* (マハゼ) und *Nibea mitsukurii* (ニベ), deren Muskulatur an fettigen Stoffen arm ist und daher in Japan als das Material für die gekochte Fischpastete (Kamaboko) gebraucht wird, der Fall. Dagegen ist die Lipoidmenge bei den Knorpelfischen bei weitem geringer. Die Knorpelfische haben knorpeliges Skelet mit reichlicher Grundsubstanz, deren Gehalt an Chondroitinschwefelsäure oder aber an sauren Polysaccharidverbindungen, wie durch die starke Pjs-SCHIFF-Reaktion und die starke Metachromasie mit Toluidinblau nachgewiesen ist, viel größer ist als bei den Knochenfischen. Die Knorpelfische scheinen also mit sauren Polysaccharidverbindungen ausgestattet zu sein. Auf welche Weise die Reichlichkeit des tierischen Körpers an sauren Polysaccharidverbindungen mit der Armut des Blutes an lipoiden Substanz zusammenhängt, ist noch unbekannt.

IV. Zusammenfassung.

Die Menge der Lipide im Blutplasma ist bei den Knorpelfischen bei weitem geringer als bei den Knochenfischen. Die Pjs-SCHIFF-Reaktion und die Metachromasie mit Toluidinblau zum Nachweis von sauren Poly-

saccharidverbindungen treten in der Knorpelgrundsubstanz der Knorpelfische beträchtlich stärker auf als in der der Knochenfische.

内 容 自 抄.

9種の硬骨魚と2種の軟骨魚の血漿の類脂質の量を染料ピクトリア青を用いる著者の方法で測定し、それが硬骨魚に甚だ多く、軟骨魚に著しく少いことを見た。両者の軟骨基質の過ヨード酸 Schiff 反応とトルイジン青での異調染色は硬骨魚よりも軟骨魚に強く現われ、軟骨魚の軟骨基質には酸性多糖類化合物が著しく多いことが示された。ただし軟骨魚の体内に酸性多糖類化合物が多いこととその血液に類脂質が少いことが如何に関係しているかをまだ詳らかにしない。

Literatur.

Day, A. J., G. K. Wilkinson a. C. J. Schwartz: The effect of toluidin blue on serum lipids and lipoproteins in rabbits. Austral. J. exp. Biol. 34 (1956). — **Kurita, H.:** Über den Einfluß des Chondroitinsulfates auf die experimentelle Atherosklerose beim Kaninchen. Med. J. Shinshu Univ. 1 (1955). — **Tokuda, M.:** Eine neue Methode zur Bestimmung des Lipoides im Blutplasma durch Filtrierung mit Viktoriablauf getränktem Filtrierpapier. Arch. hist. Jap. 10 (1956). — **Watanabe, R.:** The distribution of lipids in the blood serum and red blood cells of various kinds of animals. Keijo J. Med. 11 (1941).

Erläuterung zu den Tafelabbildungen.

Abb. 1. Zungenknorpel aus dem Knochenfisch *Paralichthys olivaceus* (oben) und dem Knorpelfisch *Dasyatis akajei* (unten). Die Schnitte sind auf ein und denselben Objektträger aufgeklebt und mittels der Pjs-SCHIFF-Reaktion auf Polysaccharidverbindungen geprüft. 100×

Abb. 2. MECKELscher Knorpel aus denselben Fischen wie bei Abb. 1. Pjs-SCHIFF-Reaktion. 100×

Abb. 3. Knorpel des Flossenträgers aus denselben Fischen wie bei Abb. 1. Pjs-SCHIFF-Reaktion. 100×

Abb. 1,

Abb. 2.

Abb. 3.

Abb. 4. Zungenknorpel aus dem Knochenfisch *Sawara niphonia* (oben) und Knorpelfisch *Cynias manzo* (unten). Die Schnitte sind auf ein und demselben Objektträger mittels der Pjs-SCHIFF-Reaktion auf Polysaccharidverbindungen geprüft. 100×

Abb. 5. MECKELscher Knorpel aus densellen Fischen wie bei Abb. 4. Pjs-SCHIFF-Reaktion. 100×

Abb. 4.

Abb. 5.