

## II. RÜCKBLICK – AUSBLICK

# Die Entdeckung von Otto Loewi von der humoralen Übertragbarkeit der Vaguswirkung auf das Herz und ihr mutmaßlicher Einfluß auf die Arbeiten aus dem Grazer Kreis

Physiologische Befunde und psychologische Zusammenhänge

Von Karl UMRATH  
Eingelangt am 5. Juni 1984

### 1. Die Entdeckung von Überträgersubstanzen, Acetylcholin als deren erste

Otto Loewi veröffentlichte 1921 seine Untersuchung über die humorale Übertragbarkeit der hemmenden Vaguswirkung auf das Herz und gab mit diesem völlig neuen Befund Anlaß zu Untersuchungen über die Existenz und über das Verhalten nervöser Überträgersubstanzen. Es ist interessant, wie Loewi zu dieser Entdeckung gekommen ist. Ich weiß es aus seinen Erzählungen, es findet sich auch bei LEMBECK und GIERE 1968 im Abschnitt „An Autobiographic Scetch“ p. 181 f. Schon 1903 hat Loewi in Marburg mit W. M. Fletcher aus Cambridge, England, darüber gesprochen, daß gewisse Pharmaka die fördernde oder die hemmende Wirkung von Nerven nachahmen. Im Laufe der Gespräche kam Loewi der Gedanke, daß die Nerven an ihren Enden Substanzen freisetzen könnten, welche die entsprechenden Wirkungen an den Erfolgsorganen haben. Damals sah er aber keine Möglichkeit, die Richtigkeit dieser Ansicht zu erweisen. Erst in der Nacht vor Ostersonntag 1920 erwachte er, machte Licht und kritzelte etwas auf ein dünnes Papier. Er schlief wieder ein, und als er um 6 Uhr früh erwachte, glaubte er, etwas sehr Wichtiges aufgeschrieben zu haben, konnte es aber nicht lesen. In der nächsten Nacht wiederholte sich der Gedanke um 3 Uhr früh. Es war der Entwurf eines Experimentes zur Prüfung der chemischen Natur der Nervenwirkung. Loewi stand auf, ging ins Institut und machte den ersten gelungenen Versuch zur humoralen Übertragung der Vaguswirkung auf das Herz.

Loewi sagte selbst, es war gut, daß er der Eingebung folgte, ohne viel nachzudenken, denn sonst hätte er es für unwahrscheinlich gehalten, daß bei der Vagusreizung soviel Substanz freigesetzt würde, daß man sie bei Übertragung der Füllflüssigkeit auf ein zweites Herz nachweisen könnte.

Loewi war in allen Mitteilungen über den Vagusstoff sehr vorsichtig in der Formulierung der Ergebnisse. Er sprach noch lange nur vom Vagusstoff, als schon wahrscheinlich war, daß es sich um Acetylcholin handelt. Daran war vielleicht auch schuld, daß Loewi die ersten Versuche in der günstigsten Jahreszeit machte, in der die Froschherzen für den Vagusstoff am empfindlichsten sind. Er mußte dann ein Jahr warten, bis er wieder gut reproduzierbare Versuche hatte.

Loewi hat mit seinen Mitarbeitern die muscarinartige, durch Atropin behebbare Wirkung des Acetylcholins untersucht. Zur nicotinartigen Wirkung hat er sich offiziell sehr skeptisch geäußert (LEMBECK und GIERE 1968, S. 89, 3,89 [14, 79 f.]). Im Institut, im privaten Gespräch, hat er aber, wie ich mich erinnere, polemisch gesagt: „Eccles ist ein Ekel“. Eccles hat nämlich aus seinen elektrischen Befunden bei der Überleitung von motorischen Nerven auf Muskeln geschlossen, daß die Überleitungszeit für eine elektrische Übertragung spricht. Erst später kam Eccles zu der Überzeugung, daß diese Zeit durch die Zeit der Acetylcholinfreisetzung und Acetylcholinwirkung zu erklären ist.

Bei dieser Vorsicht in der Veröffentlichung der Ergebnisse der Vagusreizung auf das Herz hat Loewi seit 1925 meistens gemeinsam mit H. Häusler eine Reihe von Arbeiten über Insulin und Glykämie<sup>1</sup> publiziert, die er dann 1929 widerrufen mußte. Die von Häusler durchgeführten Versuche konnten im Ausland nicht reproduziert werden. Loewi schickte daraufhin Häusler in die betreffenden Institute, und auch Häusler konnte dort und auch später in Graz seine früheren Versuche nicht reproduzieren.

Diese Angelegenheit hat Loewi offenbar auch später noch sehr bedrückt. Er war von einem englischen Freund und Kollegen gefragt worden, warum er in seiner ersten Mitteilung über den Vagusstoff nicht erwähnt habe, daß dieser Acetylcholin sein könnte. Loewi antwortete, daß er das für wahrscheinlich halte, daß er aber in letzter Zeit auf einem ganz anderen Gebiet zu rasch Schlüsse gezogen habe, die er dann zurücknehmen mußte. Er wäre deshalb jetzt sehr vorsichtig, spekulative Schlüsse zu ziehen. Dabei erschien die erste Mitteilung über den Vagusstoff 1921, der Widerruf 1929. Dieser muß in Loewis Bewußtsein einen so tiefen Eindruck gemacht haben, daß ihm die Diskrepanz im Datum gar nicht auffiel. In seinem „Autobiographic Scetch“ (abgedruckt bei LEMBECK und GIERE 1968, S. 168 ff.) erwähnt Loewi Häusler und die Arbeiten über Insulin und Glykämie nicht. In persönlichen Gesprächen konnte er aber darüber einen Witz machen.

Ich erinnere mich, daß Professor Häusler viel später in einem Vortrag im naturwissenschaftlichen Verein zunächst die hier dargestellten Untersuchungen über Insulin und Glykämie mit der Widerrufung erwähnt hat und dann sagte, er sei mit Loewi auf einem Kongreß gewesen, bei dem ein Teilnehmer gesagt hätte, es könnte sich doch jeder zu seinem Namensschild noch dazuschreiben, was er Wichtiges gemacht hat. Er, Häusler, habe zu Loewi gesagt, da könnten Sie sich doch den Vagusstoff hinschreiben. Loewi habe geantwortet, wenn ich mir vorne den Vagusstoff hinschreibe, muß ich mir auch hinten auf den Popo das Insulin hinschreiben.

LOEWI hat über die humorale Übertragbarkeit der Herznervenwirkung insgesamt 14 Mitteilungen in Pfügers Arch. ges. Physiol. veröffentlicht. Zunächst hat er vor allem gezeigt, unter welchen Bedingungen man den besten Erfolg bei der humoralen Übertragung der Vaguswirkung bekommt.

In der XI. Mitteilung „Über den Mechanismus der Vaguswirkung von Physostigmin und Ergotamin“ 1926 zeigte LOEWI mit NAVRATIL, daß Physostigmin (= Eserin) die hemmende Vaguswirkung auf das Herz verstärkt und ebenso die Wirkung von Acetylcho-

<sup>1</sup> Unter Glykämie wurde ein die Glukosebindung *in vitro* hemmender Stoff vermutet.

lin, offenbar, indem es die Spaltung von Acetylcholin hemmt. Die hemmenden Wirkungen von Muscarin und Cholin werden nicht verstärkt. Daraus geht hervor, daß der Überträgerstoff vom Vagus auf das Herz Acetylcholin ist. Es wurde durch diese Versuche auch erstmals eine Alkaloidwirkung in ihrer Ursache aufgeklärt, indem gezeigt wurde, daß Physostigmin durch Hemmung der Cholinesterase wirkt.

In der XII. Mitteilung „Ergotamin und Accelarans“ 1927 haben LOEWI und NAVRATIL es schon sehr wahrscheinlich gemacht, daß der Acceleransstoff Adrenalin ist. Aber LOEWI hat erst in der XIV. Mitteilung „Quantitative und qualitative Untersuchungen über den Sympathicusstoff“ 1936 die Identität des Sympathicusstoffes mit Adrenalin sicher nachgewiesen. Dies gilt für das Froschherz auch nach jetziger Ansicht noch, während bei anderen Sympathicus-Wirkungen vielfach Noradrenalin als hauptsächlichster Bestandteil des Überträgerstoffes neben Adrenalin angenommen wird.

Die erste mir bekannte Untersuchung, die an die eingangs erwähnte Entdeckung von Loewi anknüpft, ist die von H. v. BRÜCKE (1938), in der gezeigt wird, daß die Hornhaut mancher Tiere einen sehr hohen Acetylcholingehalt hat, der nach Durchschneidung der sensiblen Nerven, des ersten Trigeminasastes, abnimmt, wobei eine Keratitis neuroparalytica auftritt. Beim Menschen aufgetretene Keratitis neuroparalytica konnte durch Eintropfen von Acetylcholin in das Auge geheilt werden.

Ich bespreche jetzt die anschließenden Untersuchungen über Acetylcholin in der Cornea verschiedener Tiere und in sekundären Sinneszellen, wobei in gebundener Form freigesetztes und in gebundener Form physiologisch wirksames Acetylcholin eine wichtige Rolle spielt.

V. BRÜCKE, HELLAUER und UMRATH (1949) haben die eben besprochenen Befunde von v. Brücke an einer größeren Anzahl von Kaninchen bestätigt und gefunden, daß das ganze oder fast das ganze Acetylcholin der Cornea im Epithel enthalten ist, womit das Hornhautepithel eines der acetylcholinreichsten bisher bekannten Gewebe ist. Sie haben auch gezeigt, daß dem nach Nervendurchschneidung herabgesetzten Acetylcholingehalt eine Aneurinabnahme geringeren Ausmaßes parallel geht.

Ungefähr zu dieser Zeit wurde an der Universität Graz eine Reihe von Arbeiten ausgeführt, die zeigt, daß sekundäre Sinneszellen Acetylcholin enthalten. BRÜCKE, HELLAUER und UMRATH (1948) fanden, daß die Papilla foliata der Kaninchenzunge mit ihren Geschmacksknospen einen hohen Acetylcholingehalt hat, der nach Durchtrennung des N. glossopharyngeus bei der Degeneration der Geschmacksknospen abnimmt. HELLAUER und UMRATH 1948 wiesen im Carotissinus Acetylcholin nach. HAGMÜLLER 1951 hat für die sekundären Sinneszellen im Cortischen Organ einen hohen Acetylcholingehalt nachgewiesen.

UMRATH und MÜSSBICHLER (1951) haben am Menschen gezeigt, daß die durch sekundäre Sinneszellen übermittelten Geschmacksempfindungen nur durch hohe Atropin-Dosen ausgeschaltet werden. Auch die Tastempfindlichkeit der Haut, die über sekundäre Sinneszellen geht, wird durch ähnlich hohe Atropin-Dosen ausgeschaltet. Die Schmerzempfindung, bei der freie sensible Nervenendigungen erregt werden, wird durch Atropin nicht betroffen. Bei der Kälte- und Wärmeempfindung der Haut fanden Umrath und Müßbichler einen leicht erregbaren, durch hohe Atropin-Dosen ausschaltbaren Anteil, der offenbar über sekundäre Sinneszellen und rasch leitende, dicke sensible Nervenfasern geht, und einen weniger leicht erregbaren, durch Atropin nicht ausschaltbaren Anteil, der am Arm mit einer um etwa eine Sekunde längeren Latenzzeit auftritt und offenbar in dünnen sensiblen Nervenfasern mit geringerer Leitungsgeschwindigkeit geleitet wird. An der sehr acetylcholinreichen Cornea des Kaninchens ließ sich die hohe Tastempfindlichkeit durch viel Atropin auf die geringe der acetylcholinfreien Hornhäute von Hund und Katze

herabdrücken. Im Vergleich zu parasympathisch innervierten Organen sind die an sekundären Sinneszellen und an der Hornhaut des Kaninchens notwendigen Atropin-Konzentrationen außerordentlich hoch und noch mehr die notwendigen Scopolamin-Konzentrationen.

HELLAUER 1950 hat gefunden, daß die Tastempfindlichkeit der Cornea verschiedener Wirbeltiere ihrem Acetylcholingehalt parallel geht. V. OER 1961 hat demgegenüber festgestellt, daß Tiere mit hohem Acetylcholingehalt der Hornhaut eine geringe Empfindlichkeit für ins Auge eingetropftes Acetylcholin haben. Sieglinde Freiin von Oer hat daraus den richtigen Schluß gezogen, daß bei Tieren mit acetylcholinreicher Hornhaut eine Acetylcholinverbindung die Überträgersubstanz vom Hornhautepithel auf die sensiblen Nerven sein muß und daß Entsprechendes für die sekundären Sinneszellen gilt.

UMRATH und KLEMENCIC (1963) haben als erste gezeigt, daß erregende Überträgersubstanzen, die durch kurzes Kochen der Gewebe in Ringer-Lösung in gebundener Form extrahiert werden, durch zwei Fermente, die nacheinander wirken, abgebaut werden. Das erste Ferment spaltet die Erregungssubstanz von der Trägersubstanz ab, das zweite zerstört die freie Überträgersubstanz mit ihrer Wirkung. Ich komme hierauf später zurück und bespreche jetzt die Befunde an der Cornea des Kaninchens. Eserin erhöht die Empfindlichkeit der Hornhaut für eingetropftes Acetylcholin, nicht aber ihre Tastempfindlichkeit. Die Krampfgifte Strychnin und Pikrotoxin steigern die Tastempfindlichkeit der Hornhaut, indem sie das Ferment hemmen, das gebundenes Acetylcholin spaltet. Dieses Ferment, das auch die gebundenen Formen mancher anderer Überträgersubstanzen spaltet, wurde von Umrath und Klemencic auch in der Hornhaut des Kaninchens nachgewiesen.

Erst UMRATH, THALER und STEINER (1978) haben gebundenes Acetylcholin in Lösung erhalten, indem sie von der Hornhaut getöteter Kaninchen in einer Salzlösung mit 1 mM Strychnin das Epithel abschabten. Das nicht kochbeständige gebundene Acetylcholin konnte dann am Auge junger Meerschweinchen getestet werden. Diese Arbeit, die pflanzliche Erregungssubstanzen betrifft, wird später ausführlicher besprochen. Auch auf gebundenes Acetylcholin wird später noch eingegangen.

Ich komme zu der letzten Arbeit, die LOEWI und HELLAUER (1938) im Pharmakologischen Institut der Universität Graz ausgeführt haben. Diese Arbeit ist durch die politischen Ereignisse, die Besetzung Österreichs durch das nationalsozialistisch regierte Deutschland, beeinflusst. Loewi schreibt in seiner Lebensbeschreibung (wiedergegeben bei LEMBECK und GIERE 1968), daß ihm sein Mitarbeiter, es war Hellauer, als er ihm das Resultat des letzten Versuches mitteilte, auch sagte, die Nationalsozialisten hätten die Herrschaft in Österreich übernommen. Loewi war so mit den wissenschaftlichen Ergebnissen beschäftigt, daß er an die möglichen Folgen der politischen Ereignisse für ihn selbst nicht dachte. Er schlief am Abend gut ein und wurde um 3 Uhr früh geweckt, als Burschen in sein Schlafzimmer eindringen, ihn verhafteten und in ein Gefängnis brachten. Es waren die ihm bekannten Söhne eines Professors der medizinischen Fakultät B. Auf wiederholte Bitten hin hat ein Wärter Loewi eine Postkarte und Bleistift gebracht. Loewi hat eine kurze Mitteilung an die Naturwissenschaften geschrieben, die der Wärter aufgegeben hat. Sie ist nicht in den Naturwissenschaften, sondern im *J. Physiol.* 93, 34 P, 1938 erschienen. Ich weiß, daß Hellauer Loewi im Gefängnis besucht hat und dort mit ihm die ausführliche Veröffentlichung der Arbeit besprochen hat. Es kann sein, daß unter anderen Verhältnissen und mit mehr Ruhe, die Arbeit etwas anders geschrieben worden wäre, ich glaube das aber eigentlich nicht. Ich habe selbst mit Loewi nach seiner Enthaftung und vor seiner Abreise ins Ausland gesprochen, vor allem über diese letzte Arbeit, und wir kamen überein, daß ich versuchen sollte, die Überträgersubstanz der sensiblen Nerven zu untersuchen; ich weiß nicht, ob damals schon an eine Zusammenarbeit von mir mit Hellauer gedacht war.

In der Arbeit von LOEWI und HELLAUER (1938) wird einleitend erwähnt, daß Acetylcholin auch bei Paramecien und bei Pflanzen vorkommt. In neuester Zeit konnte ich zeigen, daß die Acetylcholinbindung im Gewebe bei Pflanzen und bei Wirbeltieren ähnlich ist (UMRATH 1985).

In der Arbeit von LOEWI und HELLAUER (1938) wird zunächst mitgeteilt, daß die menschliche Placenta Acetylcholin enthält. Das Acetylcholin in der Placenta wurde von Elisabeth Florey in ihrer Dissertation in Graz, „Über Acetylcholin in Placenta und Uterus“ 1952, näher untersucht. Es zeigte sich, daß Placenten von Rind, Meerschweinchen, Ratte und Kaninchen kein Acetylcholin enthalten, während in menschlicher Placenta 8,6 – 35,0  $\gamma$  pro g Gewebe gefunden wurden, ohne Beziehung zur Dauer der Gravidität. Inkubierte menschliche Placenta hat innerhalb einer Stunde einmal 127,5 und einmal 137,7  $\gamma$  Acetylcholin pro g Gewebe neu gebildet. Florey bringt den Acetylcholingehalt menschlicher Placenten damit in Zusammenhang, daß beim Menschen und bei den Primaten große Bluträume zwischen foetaler und mäterner Placenta entstehen und sich mütterliche Blutgefäße ausweiten, in welche die Zotten der foetalen Placenta eintauchen. Acetylcholin führt ja bei Wirbeltieren allgemein zu einer Erweiterung der Blutgefäße.

Das für Loewi wichtigste Ergebnis seiner letzten Arbeit mit Hellauer war, daß die motorischen Nerven reichlich Acetylcholin enthalten, die sensiblen Nerven aber seiner Ansicht nach keines. Tatsächlich haben die Messungen Hellauers für die sensiblen Nerven sehr geringe Mengen Acetylcholin ergeben, die auch angeführt sind, die Loewi aber zu der Aussage „acetylcholinfrei“ veranlaßt haben.

LISSÁK und PÁSZTOR (1941) haben im Nervus opticus, im Tractus opticus und im Nervus saphenus von Hund und Katze einen ähnlichen kleinen Acetylcholingehalt gefunden, aber an seine Bedeutung für die Nervenfunktion geglaubt. BRECHT und CORSTEN (1942) haben in den hinteren Rückenmarkswurzeln von Kaninchen und Rind ähnlich geringe Acetylcholinmengen nachgewiesen. Wenn sie Schnittflächen von Nerven in Lösungen tauchten, so wurde nur bei Reizung der Nerven Acetylcholin in die Lösung abgegeben, von den motorischen Nerven allerdings 10- bis 100mal so viel wie von den sensiblen. Trotzdem glaubten die Verfasser, daß Acetylcholin in den sensiblen Nerven dieselbe Funktion habe wie in den motorischen.

Niemand von all diesen Untersuchern hat sich gefragt, ob jede sensible Nervenfasern wenig Acetylcholin enthält oder ob den sensiblen Nerven einige cholinerge Fasern beigegeben sind.

Erst UMRATH und HELLAUER 1951 haben gezeigt, daß im Nervus und Tractus opticus, dessen sensible Zellen im Auge liegen, nach Entfernung des Auges der Acetylcholingehalt stark zunimmt, wie das in Stümpfen cholinergere Nerven mit erhaltenem Zellkörper der Fall ist. Das zeigt, daß der Nervus opticus cholinerge Fasern enthält, deren Zellkörper im Gehirn liegen.

## 2. Erfolgt die Erregungsleitung innerhalb der Nervenfasern durch Acetylcholin oder durch eine noch unbekannt Substanz?

Die Beteiligung von Acetylcholin an der Erregungsleitung in allen Nerven ist deswegen oft angenommen worden, weil Eserin und Strychnin, die dem Acetylcholinabbau entgegenwirken, die Erregungsleitung in Nerven blockieren. RIEDEL 1962 hat in einer bei mir ausgeführten Dissertation gezeigt, daß diese Blockierung der Erregungsleitung in sensiblen und in motorischen Nervenfasern durch Pikrotoxin stark verzögert wird. Pikrotoxin hat auf Acetylcholin kaum einen Einfluß, hemmt aber den fermentativen Abbau der

Erregungssubstanz der sensiblen Nerven. Riedel schloß daher aus seinen Versuchen, daß eine noch unbekannt Substanz für die Erregung in allen Nerven verantwortlich sei.

### 3. Andere Überträgersubstanzen als Acetylcholin bei verschiedenen Tiergruppen

HELLAUER und UMRATH 1948 und UMRATH und HELLAUER 1948 haben die dorsalen Stränge des Rückenmarks vom Rind, in dem die sensiblen Nerven verlaufen, extrahiert und den Extrakt untersucht. Sie fanden in ihm kein Histamin. Sie haben einen Test am denervierten Kaninchenohr entwickelt, in dem bei subcutaner Injektion ein Extrakt aus dorsalen Strängen eine deutlich stärkere Rötung durch Kapillarerweiterung bedingt als ein Extrakt aus ventralen Strängen. Der Test entspricht dem Axonreflex, bei dem die Erregung sensibler Nerven zu einer Hautrötung führt. Die wirksame Substanz wurde außer in den sensiblen Nerven noch im Zentralnervensystem gefunden, wo ihr Gehalt umso höher ist, je niedriger der Acetylcholingehalt ist. Ein abbauendes Ferment wurde beschrieben, das in den dorsalen Strängen des Rückenmarks in höherer Konzentration vorkommt als in anderen Geweben und das durch Strychnin und Brucin gehemmt wird, aber nicht durch Eserin. Eserin hemmt demnach spezifisch die Cholinesterasen. Die Erregungssubstanz der sensiblen Nerven wurde Dorsin und das abbauende Ferment Dorsinase genannt. Die in den Arbeiten angegebenen Zeiten für die fermentative Zerstörung von Dorsin durch Dorsinase sind viel länger als die für die Spaltung von Acetylcholin durch Cholinesterase in vergleichbaren Versuchen. Wie ich jetzt sagen kann, ist das Hellauer und mir schon damals aufgefallen. Wir waren aber so sehr der Ansicht, daß alles so sein müsse wie beim Acetylcholin, daß wir an einen komplizierteren Abbaumechanismus nicht dachten. Erst UMRATH und KLEMENCIC (1963) haben gezeigt, daß man durch alkoholische Extraktion freies Dorsin erhalten kann, das durch Dorsinase ähnlich rasch abgebaut wird wie Acetylcholin durch Cholinesterase. Durch wäßrige Extraktion erhaltenes Dorsin ist an eine Trägersubstanz gebunden, von der es erst durch ein anderes Ferment, Pease, abgespalten werden muß. Nur freies Dorsin wird von Dorsinase abgebaut.

HELLAUER und UMRATH (1949) haben die Untersuchung über die Hemmung des fermentativen Abbaues von Überträgersubstanzen auf vier Krampfgifte ausgedehnt, auf Strychnin, Pikrotoxin, Brucin und Cardiazol. Strychnin und Brucin hemmen den Abbau von Acetylcholin weniger als den von Dorsin. Pikrotoxin hemmt den Acetylcholinabbau fast gar nicht. Cardiazol hemmt den Abbau von Acetylcholin stärker als den von Dorsin. Alle Krampfgifte lösen in denselben Verhältnissen zueinander Krämpfe aus, in denen sie die Dorsinase hemmen. Daraus wird geschlossen, daß die Hemmung der Dorsinase zur Krampfauslösung führt, wobei der Charakter der Krämpfe durch die Hemmung der Cholinesterase mitbestimmt wird. Diese Auffassung wurde durch eine Otto Loewi zum 80. Geburtstag gewidmete Arbeit von UMRATH 1953 bestätigt, in der noch drei Stoffe untersucht wurden, die nur in sehr hoher Konzentration Krämpfe bedingen, Coffein, Atropin und Santonin.

### 4. Die Hemmung des fermentativen Abbaues erregender Überträgersubstanzen löst Krämpfe aus, und vergleichende Untersuchungen hierüber bei verschiedenen Tiergruppen bestätigen aus der Morphologie erschlossene verwandtschaftliche Beziehungen

Ernst Florey wurde im letzten Kriegsjahr als junger Soldat am rechten Arm verwundet und lernte im Lazarett meinen Neffen Rolf Ostheim kennen. Durch gleiche musikalische Begabung wurden sie Freunde. Meine Schwester lud Florey zu sich nach Graz ein, um ihren

Sohn, der im Krieg ein Bein verloren hatte, etwas aufzuheitern. Als Florey mich wegen eines Dissertationsthemas fragte, riet ich ihm, zu Prof. v. Frisch zu gehen. Er sagte, er wolle kein Bienenepigone werden. Ich wußte damals gerade, daß die Krampfgifte der Wirbeltiere das Ferment hemmen, das die Überträgersubstanz ihrer sensiblen Nerven abbaut. So schlug ich Florey vor, die Krampfgifte bei verschiedenen Tiergruppen zu untersuchen. Ich wollte mit dieser Untersuchung auch auf seine stark behinderte rechte Hand Rücksicht nehmen. Florey hat, um auch den fermentativen Abbau von Überträgersubstanzen untersuchen zu können, den auch für spätere Untersuchungen wichtigen Bientest entwickelt. Dabei wird einer positiv phototaktischen entflügelten Biene ein Auge mit einer fein zugeschliffenen Nadel 0,3 mm tief angestochen. In einem schwach erleuchteten Raum läuft eine solche Biene ungerichtet. Werden ihre Augen mit der Lösung einer erregenden Substanz überpinselt, so weicht die Biene nach der Seite des angestochenen Auges ab. Wird eine hemmende Substanz verwendet, so weicht sie nach der Seite des nicht angestochenen Auges ab.

FLOREY 1951 hat in seinen Versuchen mit Krampfgiften gezeigt, daß die Deuterostomier sich einheitlich wie die zu ihnen gehörigen Wirbeltiere verhalten. Er hat auch gefunden, daß die Überträgersubstanz der sensiblen Nerven der Wirbeltiere im Bientest, also bei Arthropoden, wirksam ist. Die abbauenden Fermente sind allerdings, wie er fand, bei den beiden Tiergruppen verschieden. Damals wußte man noch nicht, daß man bei Extraktion mit wäßriger Salzlösung die Überträgersubstanzen in gebundener Form erhält. Es sind dann zwei Fermente für den Abbau notwendig, eines das die Substanz freisetzt und ein zweites, das die freie Substanz angreift. Auch die ersten Fermente sind bei den beiden Tiergruppen sehr verschieden. Die verschiedenen anderen Gruppen der Protostomier bespreche ich erst bei der Arbeit von EGGHART und UMRATH (1956), in der viel mehr verschiedene Krampfgifte angewandt wurden.

Ich erwähne nebenbei, daß Prof. von Buddenbrock sich mir gegenüber einmal dahingehend geäußert hat, daß Florey sich wohl übernommen hat und daß er nur der so allgemeinen Strychninwirkung eine Bedeutung beimesse. Tatsächlich hat aber die Strychninwirkung bei den verschiedenen Tiergruppen ganz verschiedene Ursachen. Bei den Deuterostomieren hemmt Strychnin, so wie alle anderen Krampfgifte, den fermentativen Abbau von  $\gamma$ -Aminobutyrylhistidin und durch Hemmung desselben Fermentes auch die Abspaltung von Acetylcholin,  $\beta$ -Alanylhistidin und  $\beta$ -Alanyltryptophan von ihren Trägersubstanzen. Bei Arthropoden und Anneliden hemmt Strychnin den Abbau von Alanyltyrosin. Bei den Mollusken kommen die Strychninkrämpfe sicher auf andere Art zustande, die wir noch nicht genauer kennen.

EGGHART und UMRATH (1956) haben noch eine Untersuchung über die Wirkung von Krampfgiften ausgeführt und haben dabei mehr Krampfgifte verwendet und alle Tiergruppen untersucht. Sie haben sieben Gruppen unterschieden und bestätigen die von FLOREY (1951) gefundene Einheitlichkeit der Deuterostomier. Nur ihre erste Gruppe ist nach morphologischen und entwicklungsgeschichtlichen Gesichtspunkten heterogen, es sind die Cnidarier, Mollusken, Bryozoen, Rotatorien und Anneliden. Die weiteren Gruppen sind 2. Turbellarien und Nemertinen, 3. Trematoden und Cestoden, 4. Acanthocephalen und Nematomorphen, 5. Nematoden, 6. Arthropoden und 7. Deuterostomier.

## 5. Hemmende Überträgersubstanzen bei Vertebraten und Arthropoden

FLOREY (1951, 1953, 1957, FLOREY und McLENNAN 1955 a, b, 1959, ELLIOT und FLOREY 1956, BAZEMORE, ELLIOT und FLOREY 1957) hat sich später in Amerika hauptsächlich mit seinem Faktor I befaßt, der in den späteren Arbeiten als  $\gamma$ -Aminobuttersäure

erkannt wurde. Seine Frau, Elisabeth FLOREY 1969 hat in einer Untersuchung Gebiete und Zellzüge im Zentralnervensystem der Wirbeltiere aufgezeigt, die vorwiegend Hemmungs-substanzen enthalten.

LISSÁK und ENDRŐSZI (1955, 1956) haben auch eine hemmende Substanz aus dem Nervensystem beschrieben. Die Substanz ist lipoidlöslich und wird durch eine Cholinesterase zerstört. Ich halte sie deshalb für  $\gamma$ -Aminobutyrylcholin.  $\gamma$ -Aminobutyrylcholin wurde von KURIAKI et al. 1958 im Gehirn nachgewiesen, synthetisiert und in seiner Wirkung untersucht. Es ist 500- bis 1000mal wirksamer als  $\gamma$ -Aminobuttersäure. Auch LISSÁK und ENDRŐSZI (1955, 1956) fanden ihre Substanz wirksamer als  $\gamma$ -Aminobuttersäure. UMRATH und KIM (1974) haben gezeigt, daß Gehirnschnitte aus radioaktivem Cholin und radioaktiver  $\gamma$ -Aminobuttersäure  $\gamma$ -Aminobutyrylcholin synthetisieren.

## 6. Mehrere erregende Überträgersubstanzen bei einer Tierart und in gebundener Form extrahierte Überträgersubstanzen brauchen zwei Fermente zu ihrem Abbau

UMRATH und KLEMENCIC (1963) haben mit dem alten Dogma, daß es neben Acetylcholin nur eine erregende Überträgersubstanz sensibler Nerven gebe, gebrochen. Sie haben gezeigt, daß die erregende Substanz aus dem Nervus opticus, Opticin, von der aus den dorsalen Rückenmarkssträngen, Dorsin, verschieden ist. Erstere ist empfindlicher für längeres Kochen und für Sauerstoff. Sie haben auch, wie schon erwähnt, gezeigt, daß man zwischen freien und gebundenen Überträgersubstanzen in Lösung unterscheiden muß. Man erhält durch kurzes Kochen der Gewebe in 75 % Alkohol die freien Überträgersubstanzen, durch Kochen in wäßriger Salzlösung die gebundenen. Die gebundenen Substanzen sind widerstandsfähiger gegen Kochen und gegen Sauerstoff. Umrath und Klemencic haben auch gezeigt, daß das Ferment der Wirbeltiere, das durch die Krampfgifte gehemmt wird, freies Dorsin abbaut. Sie nannten es deshalb Dorsinase. Sie haben weiter gefunden, daß diese Dorsinase von gebundenem Opticin freies abspaltet und in der Cornea des Kaninchens gebundenes Acetylcholin spaltet. Ich habe das schon beim Acetylcholin in der Hornhaut und in sekundären Sinneszellen besprochen. Freies Opticin konnten UMRATH und KLEMENCIC (1963) durch ein Ferment abbauen, für das keine hemmende Substanz bekannt ist. Gebundenes Dorsin konnten sie durch ein Ferment spalten, das sie Pease nannten und von dem ich jetzt weiß, daß es dieselbe Wirkung hat wie Bufotenin (= 5-Hydroxy, N,N-dimethyltryptamin). Die Wirkung wird gehemmt durch 5-Hydroxytryptamin und noch viel stärker durch 5-Methoxytryptamin.

Von den verschiedenen sonstigen Ergebnissen von UMRATH und KLEMENCIC (1963) erwähne ich nur die über den Abbau von Überträgersubstanzen durch Fermente anderer Tiergruppen. Ferment aus Ganglien vom Flußkrebs, also von Arthropoden, baut gebundenes und freies Opticin und freies Dorsin von Wirbeltieren ab. Jeder solche Abbau wird durch Pikrotoxin gehemmt. Gebundenes Dorsin wird durch Krebsferment nicht abgebaut. Daraus ist zu schließen, daß im Nervensystem der Arthropoden Dorsin und Opticin vorkommen, daß der Abbau der freien Substanzen durch Pikrotoxin gehemmt wird und daß die Freisetzung dieser Substanzen bei den Arthropoden durch ein Ferment erfolgt, für das keine Hemmung bekannt ist. Dieses Ferment ersetzt die Dorsinase der Wirbeltiere, nicht aber die Pease, es hat keine Bufotenin-Wirkung. UMRATH und KLEMENCIC (1963) haben es dann noch wahrscheinlich gemacht, daß bei Arthropoden eine weitere erregende Überträgersubstanz vorkommt, deren fermentativer Abbau durch Strychnin gehemmt wird. Dadurch werden die Strychninkrämpfe der Arthropoden erklärlich. Später konnte



UMRATH 1979a zeigen, daß diese Substanz Alanyltyrosin ist. Ihr Abbau ist durch Ferment aus Ganglien von Arthropoden oder von Anneliden möglich und wird durch Strychnin gehemmt. Ferment aus Anneliden baut auch gebundenes und freies Opticin ab, und für diesen Abbau ist keine Hemmung bekannt.

UMRATH und KLEMENCIC (1963) haben auch Mollusken untersucht und gefunden, daß Ferment aus Ganglien von Schnecken gebundenes und freies Dorsin nicht abbaut. Das Weitere ergänze ich durch spätere Befunde von mir (UMRATH 1979a). Schneckenferment baut gebundenes Opticin ab, und dieser Abbau wird durch Strychnin gehemmt. Opticin kommt auch in Ganglien von Schnecken vor. Schneckenferment baut freies Opticin aus Schnecken und solches aus Wirbeltieren ab, wofür keine Hemmung bekannt ist. Die Spaltung von gebundenem Opticin aus Schnecken erfolgt durch ein Ferment, das wie Bufotenin wirkt.

SILBERBAUER und UMRATH (1965) und UMRATH und SILBERBAUER (1967) haben dem Bientest in der zweiten Arbeit eine zahlenmäßig auswertbare Form gegeben. Sie haben eine neue Überträgersubstanz gefunden, die sie Cerebellin nannten, weil sie im Kleinhirn als einzige mit dem Bientest nachweisbare Substanz vorkommt. Cerebellin ist ähnlich empfindlich gegen Sauerstoff und gegen Erwärmen wie Opticin, wobei von beiden Substanzen die freien Formen viel empfindlicher sind als die gebundenen. Dorsin ist viel weniger empfindlich. Durch Extraktion mit wäßriger Salzlösung erhaltenes gebundenes Cerebellin wird durch Dorsinase gespalten. Die durch alle Krampfgifte hemmbare Dorsinase kommt im Kleinhirn nur in geringer Menge vor und ist der begrenzende Faktor beim Abbau von gebundenem Cerebellin durch Kleinhirnferment. Cerebellin kommt im Nervus olfactorius vor. SILBERBAUER und UMRATH (1965) fanden im Großhirn Cerebellin, Dorsin und Opticin, im Mittelhirn Opticin, im Kleinhirn Cerebellin, im Kleinhirnseitenstrang Cerebellin, im Pyramidenseitenstrang Opticin und Dorsin, im Pyramidenvorderstrang keine erregende Überträgersubstanz und in den dorsalen Strängen von Goll und Burdach Dorsin.

Es ist bekannt, daß Reserpin zu einer Verarmung an Noradrenalin und an 5-Hydroxytryptamin führt. SILBERBAUER und UMRATH (1965) haben gefunden, daß bei Kaninchen und Meerschweinchen, die ein mg Reserpin pro kg Körpergewicht durch zwei Tage erhalten hatten, Cerebellin und Opticin aus dem Nervensystem verschwunden waren, während Dorsin erhalten war. Nach einem Tag waren Cerebellin und Opticin nicht mehr in gebundener, sondern nur noch in freier Form extrahierbar. UMRATH und SILBERBAUER (1967) haben dann gezeigt, daß von gebundenem Cerebellin in Lösung durch Reserpin freies abgespalten wird. Cholor diazepoxid hat diese Wirkung nicht, obwohl es sie bei hemmenden Überträgersubstanzen hat.

## 7. Hemmende Überträgersubstanzen und Identifizierung einiger von ihnen

Ich komme jetzt zu drei in Graz ausgeführten Arbeiten über Hemmungssubstanzen. UMRATH und BOHN (1963) haben am Ileum des Meerschweinchens getestet und Gehirn des Meerschweinchens extrahiert. Bei Extraktion mit wäßriger Salzlösung erhielten sie die Hemmungssubstanz in unwirksamer, gebundener Form. Durch Zusatz des schon erwähnten Fermentes Pease wurde Hemmungssubstanz freigesetzt, wodurch die durch Acetylcholin bedingte Kontraktionswirkung des Extraktes verringert wurde. Bei alkoholischer Extraktion und Überführung in wäßrige Lösung erhielten sie die freie Hemmungssubstanz, die Acetylcholin- und Arecolinkontraktionen am Darm hemmte. Ein fermentativer Abbau der freien Hemmungssubstanz ließ sich nicht nachweisen. Es zeigte sich, daß in einer

Lösung, in welcher freie Hemmungssubstanz lange Zeit mit Acetylcholin oder Arecolin beisammen war, die Wirkung der Hemmungssubstanz mit der Zeit verdeckt wird, so daß sie kaum oder gar nicht mehr zu erkennen ist. An demselben Darm ist aber bei einer neu hergestellten Mischung von erregender und hemmender Substanz die Hemmung wieder voll zu erkennen. Die Blockierung der Hemmung kann durch Zusatz von Strychnin, Bromlysergsäurediäthylamid oder Chlorpromazin aufgehoben werden. Lysergsäurediäthylamid blockiert schon in hoher Verdünnung die Hemmung.

BOHN 1966 fand, daß sich die in wäßriger Salzlösung in gebundener Form extrahierte Hemmungssubstanz nicht nur durch das Ferment Paese, sondern auch durch Trypsin freisetzen läßt. Es handelt sich also um eine Bindung an ein Peptid. In den von Bohn untersuchten Gehirnteilen kam neben der gebundenen Hemmungssubstanz (G bei BOHN, später  $\gamma$ -Guanidinobuttersäure) auch freie vor (A bei BOHN). Bohn kam zu der Ansicht, daß die Wirkung seiner Hemmungssubstanz A am Darm von Krebsen durch die Wirkung von  $\gamma$ -Aminobuttersäure erklärt werden kann, nicht aber die Wirkung am Ileum des Meerschweinchens, an dem die Wirkung von  $\gamma$ -Aminobuttersäure zu schwach ist.

UMRATH und GRALLERT (1967) haben sehr ausführlich „über nervöse Hemmungssubstanzen der Wirbeltiere und über Wirkungsmechanismen von Psychopharmaka“ berichtet. Sie haben gefunden, daß manche Substanzen, wie Adrenalin, Dopamin und Dopa, ebenso gut hemmen, wenn sie dem Darmbad vor der erregenden Substanz zugegeben werden, wie wenn sie mit der erregenden Substanz gemischt zugesetzt werden, wenn die erreichte Konzentration der hemmenden Substanz im Darmbad immer dieselbe ist. Dies ist in Übereinstimmung mit der allgemeinen, durch Versuche bewiesenen Auffassung, daß Adrenalin durch Hyperpolarisation der Darmwand hemmt. Hingegen hemmen  $\gamma$ -Aminobuttersäure,  $\gamma$ -Aminobutyrylcholin und  $\gamma$ -Guanidinobuttersäure viel besser, wenn sie dem Darmbad mit der erregenden Substanz gemischt in kleinem Volumen zugesetzt werden, als wenn sie in derselben Menge dem Darmbad vor der erregenden Substanz zugesetzt werden. Daraus und aus einer langen Nachwirkung des Effektes wird geschlossen, daß die hemmenden Substanzen mit den erregenden Verbindungen bilden, welche die Darmwand für die erregenden Substanzen unempfindlich oder weniger empfindlich machen.

$\gamma$ -Aminobuttersäure und  $\gamma$ -Aminobutyrylcholin hemmen Ileum-Kontraktionen, die durch Acetylcholin, Arecolin, Histamin oder Substanz P ausgelöst werden, nicht durch 5-Hydroxytryptamin ausgelöst. Die beiden Substanzen entsprechen der freien Hemmungssubstanz von BOHN 1966.  $\gamma$ -Guanidinobuttersäure hemmt Ileum-Kontraktionen, welche durch Acetylcholin oder Histamin ausgelöst werden, nicht aber durch Arecolin ausgelöst und kaum durch Substanz P oder durch 5-Hydroxytryptamin ausgelöst.

UMRATH und GRALLERT (1967) haben auch untersucht und in einer Tabelle zusammengestellt, welche Substanzen die verschiedenen Hemmungssubstanzen blockieren. Nur drei, Atropin, Scopolamin und Akineton, haben gut blockiert, wenn sie dem Darmbad vor der erregenden und der hemmenden Substanz zugesetzt wurden. Da sie Acetylcholin Kontraktionen blockieren, wurde meist Histamin als erregende Substanz angewandt. Zur Erklärung nehmen Umrath und Grallert an, daß diese Substanzen, so wie sie die zur Erregung führenden Acetylcholin-Rezeptoren blockieren, auch die zur Hemmung führenden Adrenalin-, Dopamin- und Dopa-Rezeptoren blockieren.

Für die Erklärung der Blockierung der Hemmungen von  $\gamma$ -Aminobuttersäure,  $\gamma$ -Aminobutyrylcholin und  $\gamma$ -Guanidinobuttersäure nehmen Umrath und Grallert an, daß die Atropin-, Scopolamin- und Akineton-Rezeptoren am Darm so verändert werden, daß die Verbindungen von Histamin und Hemmungssubstanz jetzt ebenso oder stärker wirken als Histamin allein. Eine solche Verstärkung der Kontraktionen wurde auch beobachtet.

Von den übrigen 21 blockierenden Substanzen fanden UMRATH und GRALLERT (1967), daß sie am besten blockieren, wenn sie der Mischung von erregender und hemmender Substanz zugesetzt werden, ehe diese ins Darmbad kommt. Zur Erklärung nehmen sie an, daß die blockierende Substanz eine Verbindung mit der hemmenden bildet, wodurch bei  $\gamma$ -Aminobuttersäure,  $\gamma$ -Aminobutyrylcholin und  $\gamma$ -Guanidinobuttersäure die erregende Substanz frei wird, oder bei Adrenalin, Dopamin und Dopa die hemmende Substanz von der Darmwand entfernt wird.

Mit den in ihrer Tabelle 1 angegebenen eben noch wirksamen Verdünnung der blockierenden Substanzen konnten UMRATH und GRALLERT (1967) für einige Teile des Nervensystems feststellen, welche Hemmungssubstanzen in ihnen vorkommen. Sie fanden im Kleinhirnseitenstrang, Pyramidenseitenstrang und Pyramidenvorderstrang  $\gamma$ -Aminobuttersäure als einzige identifizierte Hemmungssubstanz, in sympathischen Ganglien am Hals  $\gamma$ -Aminobuttersäure und vielleicht auch etwas  $\gamma$ -Aminobutyrylcholin, in der Netzhaut  $\gamma$ -Aminobuttersäure und weniger  $\gamma$ -Aminobutyrylcholin und im Gehirn  $\gamma$ -Aminobutyrylcholin, weniger  $\gamma$ -Aminobuttersäure und  $\gamma$ -Guanidinobuttersäure.

Es zeigten sich auch Beziehungen der blockierenden Substanzen zu den Psychopharmaka. Nach UMRATH und GRALLERT (1967) sind Stoffe, die schon in hoher Verdünnung alle drei nervösen Hemmungssubstanzen blockieren, Halluzinogene. Die Psychoanaleptika blockieren die Hemmungen von  $\gamma$ -Aminobuttersäure und von  $\gamma$ -Aminobutyrylcholin, die letzteren mitunter in hoher Verdünnung.

Von Krampfgiften blockiert Strychnin die Hemmung von  $\gamma$ -Aminobuttersäure, Pikrotoxin und insbesondere Brucin die von  $\gamma$ -Aminobuttersäure und die von  $\gamma$ -Aminobutyrylcholin. Die Konzentrationen, in denen die Krampfgifte die Hemmungssubstanzen blockieren, haben keinerlei Beziehung zu den krampfauslösenden Dosen, die im selben Verhältnis zueinanderstehen, indem sie die Dorsinase hemmen.

## 8. Identifizierung erregender Überträgersubstanzen und die Wirkung von freiem und gebundenem 5-Hydroxytryptamin

Ich komme jetzt wieder zu erregenden Überträgersubstanzen. UMRATH und FÜRST (1976) haben gezeigt, daß sich  $\gamma$ -Aminobutyryl-L-histidin in jeder Beziehung wie freies Dorsin von Vertebraten und von Arthropoden verhält.

UMRATH 1979a hat gezeigt, daß Opticin  $\beta$ -Alanin-L-tryptophan ist, das bei Wirbeltieren und bei Arthropoden vorkommt, daß Cerebellin der Wirbeltiere  $\beta$ -Alanin-L-histidin ist und daß die erregende Substanz der Arthropoden und Anneliden, deren fermentativer Abbau durch Strychnin gehemmt wird, Alanin-L-tyrosin ist.

UMRATH 1979b hat 5-Hydroxytryptamin behandelt. Es läßt sich bei Wirbeltieren und bei Mollusken in gebundener Form extrahieren und durch Sauerstoff freisetzen. Freies 5-Hydroxytryptamin und 5-Hydroxytryptaminhydrogenmaleinat verhindern die Freisetzungen durch Pease und die durch die Indole Bufotenin, N,N-Dimethyltryptamin und Tryptamin. Werden Lösungen von 5-Hydroxytryptaminhydrogenmaleinat einen Tag stehen gelassen, so verlieren sie die Wirkung, die Pease zu hemmen. Das beruht auf der Entstehung einer chromatographisch abtrennbaren Substanz.

Am Bienenauge wirkt im Sommer gebundenes 5-Hydroxytryptamin hemmend. Wird es durch Sauerstoff freigesetzt, so wirkt es, wie 5-Hydroxytryptaminhydrogenmaleinat, erregend. Im Winter sind beide Wirkungen umgekehrt. Damit in Zusammenhang ist die Verschmelzungsfrequenz des Bienenauges im Sommer hoch, im Winter niedriger.

Ich erwähne noch zwei bisher leider nur in botanischen Arbeiten mitgeteilte Befunde. UMRATH, THALER und STEINER (1978) fanden, daß Indolyl-3-Essigsäure, das pflanzliche

Auxin,  $\gamma$ -Guanidinobuttersäure in Stammhirnextrakten freisetzt und daß diese Freisetzung durch 5-Hydroxytryptaminhydrogenmaleinat gehemmt wird. Weiter fanden sie, daß Indolyl-3-Essigsäure in der Hornhaut junger Meerschweinchen und in Hornhautextrakten Acetylcholin freisetzt.

Bei UMRATH und THALER (1981, p. 147) wird vermerkt: „Von Bufotenin genügt eine  $10^{-6}$  mM Lösung zur Freisetzung von  $\gamma$ -Guanidinobuttersäure, und  $10^{-6}$  mM 5-Methoxytryptamin verhindert diese Freisetzung. Die freisetzungsverhindernde Wirkung von Liquor cerebrospinalis beruht wahrscheinlich auf 5-Methoxytryptamin.“ Zur Verhinderung der Freisetzung von  $\gamma$ -Guanidinobuttersäure durch Bufotenin braucht man 100 mal mehr 5-Hydroxytryptamin als 5-Methoxytryptamin.

## 9. Warum wurde die Ansicht Loewis von der Bedeutungslosigkeit des Acetylcholins in den sensiblen Nerven so wenig anerkannt?

Man kann sich fragen, warum die Entdeckung von Loewi über die humorale Übertragbarkeit der Vaguswirkung auf das Herz weltweit anerkannt wurde, während die übrigen hier besprochenen Arbeiten wenig Beachtung gefunden haben. Schon in der Arbeit von LOEWI und HELLAUER (1938) war die Aussage, daß die sensiblen Nerven acetylcholinfrei sind, ungünstig. Ich (UMRATH 1961a) wurde bei dem Symposium über Substanz P in Sarajevo in der Diskussion von Lissák gefragt, ob ich bezüglich des Acetylcholins in sensiblen Nerven die Ansicht von Loewi und Hellauer oder die von ihm und von Brecht und Corsten teile. Ich habe geantwortet, alle hätten etwa dieselben Acetylcholinmengen in den sensiblen Nerven gefunden. Im Nervus opticus hätte ich mit Hellauer in degenerierenden, mit dem Gehirn zusammenhängenden Stümpfen Acetylcholinzunahmen gefunden, die auf cholinerge Zellkörper in Gehirn hinweisen. In den hinteren, sensiblen Wurzeln sei eine Menge von Acetylcholin enthalten, die ihrem Gehalt an präganglionären, vegetativen, cholinergen Fasern entspräche. Diese Diskussionsbemerkung ist natürlich nicht genügend bekannt geworden und auch zu spät gekommen.

Die Arbeiten von LISSÁK und PÁSZTOR (1941) und von BRECHT und CORSTEN (1942) haben offenbar Loewi so skeptisch gegenüber seinen eigenen Befunden gemacht, daß er auch gegenüber dem Nachweis von Dorsin in den sensiblen Nerven mit dem Test am denervierten Kaninchenohr sehr skeptisch war. Soviel ich weiß, hat er diese Versuche nie öffentlich erwähnt, und das hat wieder ihre Anerkennung beeinträchtigt und seine Skepsis verstärkt.

Wesentlich ist auch, daß neue Erkenntnisse in der Wissenschaft, wenn sie von eingewurzelten Vorstellungen abweichen, nur schwer anerkannt werden. Die Arbeit von UMRATH und FÜRST (1976) „Identifizierung der Überträgersubstanz der sensiblen Nerven als  $\gamma$ -Aminobutyryl-L-histidin“ ist in den von Prof. Heran mitherausgegebenen Zoologischen Jahrbüchern, Abt. f. Physiologie, erschienen. Sie bedeutet die Identifizierung einer lange gesuchten Substanz. Als zweiter Teil dieser Abhandlung waren die Alanyl-Dipeptide als nervöse Überträgersubstanzen gedacht. Dieser zweite Teil wurde von der Redaktion der Zeitschrift abgelehnt. Damals war das Vorkommen verschiedener Überträgersubstanzen in verschiedenen sensiblen Nerven noch nicht allgemein anerkannt. Allerdings war die Arbeit von UMRATH und KLEMENCIC (1963) von Prof. v. Frisch in seine Zeitschrift für vergleichende Physiologie aufgenommen worden. Vielleicht war v. Frisch besonders weitblickend. Prof. Lembeck, der schon lange über Substanz P arbeitet, in letzter Zeit mit synthetischen Präparaten, hielt Substanz P für eine Überträgersubstanz sensibler Nerven. Er kam dadurch in einen Gegensatz zu Hellauer und mir, da für Substanz P kein durch Krampfgifte hemmbarer Abbau bekannt war. Später hat sich gezeigt, daß Substanz P nur in dünnen

sensiblen Nervenfasern vorkommt. Prof. Lembeck hat daher Dipeptide als Überträgersubstanzen der dicken Fasern gelten lassen. Als ich meine Befunde über die Alanyl-Dipeptide in den Mitteilungen des naturwissenschaftlichen Vereins für Steiermark publizieren wollte, wurde zunächst Prof. Heran als Begutachter gefragt. Da er keine Auskunft gab, war das Erscheinen der Abhandlung gefährdet. Es wurde dann Prof. Lembeck gebeten, der ein sehr günstiges Gutachten abgab, so daß die Abhandlung gedruckt wurde.

## 10. Noch nicht abgeschlossene Untersuchungen

Prof. Lembeck und ich untersuchen jetzt die Freisetzung von Acetylcholin in gebundener Form im Epithel der Cornea junger Meerschweinchen und in sekundären Sinneszellen der Geschmacksbecher der Zunge. Das in gebundener Form freigesetzte Acetylcholin erregt die sensiblen Nerven. Die Untersuchung der sekundären Sinneszellen wird noch länger dauern, während die des Cornea-Epithels weitgehend abgeschlossen ist, so daß ich hier kurz darüber berichten kann.

UMRATH und KLEMENCIC (1963) haben gefunden, daß sich die Tastempfindlichkeit der Hornhaut des Kaninchens durch Strychnin oder Pikrotoxin steigern läßt, nicht aber durch Eserin, das die Empfindlichkeit für eingetropftes Acetylcholin steigert. Ich habe später von der Hornhaut getöteter Kaninchen das Epithel in 0,15 ml Salzlösung, die 0,7 mM (millimolares) Strychnin oder 5 mM Pikrotoxin enthielt, abgeschabt. Ich habe den Test vom UMRATH und FÜRST (1976) an den Augen junger Meerschweinchen angewandt, bei dem in ein Auge die zu testende Lösung, in das andere Salzlösung eingetropft wird. Die nach ein bis zwei Minuten beginnende Verengung der Lidspalte wird nach sechs Stufen beurteilt. Die Krampfgiftlösung mit abgeschabter Cornea war gut wirksam und wesentlich stärker wirksam als die fast unwirksame bloße Krampfgiftlösung. Der Unterschied war hoch signifikant.

Wurde Strychninlösung mit gebundenem Acetylcholin in zwei Teile geteilt und ein Teil kurz gekocht, so verlor dieser seine Wirksamkeit vollkommen. Bei Zusatz von Eserin trat beim Kochen nur eine Wirksamkeitsabnahme um etwa ein Drittel ein, weil das freie Acetylcholin jetzt vor dem Abbau durch Cholinesterase im Testauge geschützt war. Wenn ein Extrakt mit gebundenem Acetylcholin auf pH 4 gebracht wurde und dann wieder neutralisiert wurde, so verlor er seine Wirksamkeit, d. h., das gebundene Acetylcholin wurde gespalten.

Gebundenes Acetylcholin ist viel resistenter gegen Atropin als freies. Wurde das Epithel einer Kaninchen-Cornea in Eserinlösung abgeschabt, so daß der Extrakt freies Acetylcholin enthielt, so ließ sich die Wirkung am Meerschweinchenaug durch Atropinsulfat 1:1000 (1,3 mM Atropin) fast vollkommen blockieren. Wurde das Epithel der Kaninchen-Cornea unter Strychnin oder Pikrotoxin abgeschabt, so daß der Extrakt gebundenes Acetylcholin enthielt, so wurde seine Wirkung am Auge junger Meerschweinchen durch Atropinsulfat 1:1000 nicht verändert, durch Atropinsulfat 1:300 verringert und erst durch Atropinsulfat 1:100 aufgehoben.

Am Ileum des Meerschweinchens wirkte gebundenes Acetylcholin aus dem Epithel der Kaninchen-Cornea gleich stark kontraktionsauslösend wie daraus durch Kochen oder durch Säure freigesetztes Acetylcholin. Die Atropinempfindlichkeit war aber beim gebundenen Acetylcholin viel geringer als beim freien.

Zur Untersuchung der Spaltung von gebundenem Acetylcholin in freies und in die Trägersubstanz wurden zweierlei Versuche ausgeführt. Erstens wurde ein Extrakt von gebundenem Acetylcholin des Cornea-Epithels vom Kaninchen oder Rind in zwei Teile geteilt. Einem Teil wurde die freisetkende Substanz zugesetzt. Das freigesetzte Acetylcholin

wurde von der Cholinesterase im Extrakt zerstört. Beide Teile wurden dann gegeneinander an den Augen junger Meerschweinchen getestet. Zweitens wurde jungen Meerschweinchen in ein Auge eserinhaltige Ringerlösung, in das andere Auge bloße Ringerlösung eingetropfelt und nach einer halben Minute in beide Augen die freisetzende Substanz. Nur in dem Auge, das vorher Eserin erhalten hatte, bewirkte die freisetzende Substanz eine Verengung der Lidspalte.

UMRATH und THALER (1980) haben auf diese beiden Arten bei vielen Substanzen die für die Freisetzung von Acetylcholin aus der gebundenen Form notwendigen Konzentrationen bestimmt. Für die Freisetzung im Gewebe waren viel höhere Konzentrationen notwendig als für die in der Lösung. Im allgemeinen ging die Wirksamkeit der 29 untersuchten freisetzenden Substanzen bei gebundenem Acetylcholin ihrer Wirksamkeit bei der Freisetzung von  $\gamma$ -Guanidinobuttersäure in Stammhirnextrakten und ihrer Wirksamkeit bei der Freisetzung von Erregungssubstanz in Sprossen von Mimosa und in Keimlingen von *Lupinus* parallel.

Ich habe mit den beiden Tests festgestellt, daß Trypsin 1:5000 von gebundenem Acetylcholin freies abspaltet.

$\alpha$ -Chymotrypsin 1:5000 hat am Auge junger Meerschweinchen mit dem zweiten Test keinen und mit dem ersten Test nur einen geringen Effekt ergeben. Ich habe dann in ein Auge  $\alpha$ -Chymotrypsin 1:5000 in Ringerlösung und in das andere Auge bloße Ringerlösung eingetropfelt. Nach einer halben Minute habe ich in beide Augen Extrakt aus Rinder-Cornea, drei Hornhäute in 0,5 ml Strychninlösung, eingetropfelt,  $\alpha$ -Chymotrypsin hat die Wirkung des Corneaextraktes weitgehend blockiert, es scheint demnach gegenüber dem gebundenen Acetylcholin in der Cornea eine atropinartige Wirkung zu haben.

Den jetzt zu besprechenden Befund habe ich nur mit dem zweiten Test erhoben, bei dem ein Auge mit Eserinlösung, das andere mit bloßer Ringerlösung vorbehandelt wird. Bei der Freisetzung von Acetylcholin aus gebundenem Acetylcholin in der Cornea junger Meerschweinchen sind Substanzen besonders wirksam, die am dritten C-Atom eine OH-Gruppe tragen, wobei das C der COOH-Gruppe als erstes gezählt wird. Die geringsten noch wirksamen Konzentrationen sind bei Buttersäure 100 mM, bei 2-Hydroxybuttersäure 5 mM, bei 3-Hydroxybuttersäure 1 mM, bei 4-Hydroxybuttersäure 20 mM, bei 2-Amino-3-Hydroxybuttersäure 2 mM und bei 2-Amino-4-Hydroxybuttersäure 20 mM. Versuche mit radioaktivem Cholin, die ich hier nicht näher bespreche, zeigen das für die Cornea, aber auch für andere Gewebe. Dieselben Verhältnisse finden sich bei Pflanzen (UMRATH 1985).

Bei den folgenden Befunden handelt es sich nicht um Freisetzungen, sondern um die lidverengende Wirkung einer Substanz am Auge junger Meerschweinchen, entweder im Vergleich mit der kaum wirksamen Ringerlösung oder im Vergleich mit einer Mischung dieser Substanz mit einer sie hemmenden bzw. sie blockierenden Substanz.

1 bis 10 mM  $\gamma$ -Aminobutyrylhistidin führen zu einer deutlichen Verengung der Lidspalte, die sich durch Beimischung von 0,1 mM 5-Methoxytryptamin fast vollkommen hemmen läßt. Das ist interessant, weil sich die Freisetzung von  $\gamma$ -Aminobutyrylhistidin durch Pease bzw. Bufotenin mit  $10^{-6}$  mM 5-Methoxytryptamin blockieren läßt. 1 mM Histamin führt auch zu einer Verengung der Lidspalte, die aber durch Beimischung von 0,1 mM 5-Methoxytryptamin nicht verändert wird. Histamin wird nicht durch Bufotenin, sondern durch Dorsinase freigesetzt (UMRATH 1979a). Die Wirkung von 1 mM Histamin läßt sich durch Beimischung von 0,4 bis 1 mM  $\gamma$ -Guanidinobuttersäure hemmen. Durch weitere Beimischung von 0,1 mM 5-Methoxytryptamin wird die  $\gamma$ -Guanidinobuttersäure-Hemmung blockiert, und die Histamin-Wirkung tritt voll in Erscheinung. In Stammhirnextrakten wird  $\gamma$ -Guanidinobuttersäure durch Pease bzw. Bufotenin freigesetzt

(UMRATH 1979b), und die Freisetzung durch  $10^{-6}$  mM Bufotenin läßt sich durch  $10^{-6}$  mM 5-Methoxytryptamin blockieren.

Histamin wird durch Dorsinase freigesetzt, die sich durch die Krampfgifte, also besonders durch Strychnin, hemmen läßt (UMRATH 1979a). Demgemäß läßt sich die Lidspalte verengende Wirkung von 1 mM Histamin durch Beimischung von 0,5 mM Strychnin hemmen. Die Wirkung von 1 mM Histamin läßt sich auch durch Beimischung von 1 mM  $\gamma$ -Aminobuttersäure weitgehend hemmen. Auch  $\gamma$ -Aminobuttersäure wird durch Dorsinase freigesetzt. Wenn man der Mischung von 1 mM Histamin und 1 mM  $\gamma$ -Aminobuttersäure noch 0,5 mM Strychnin zusetzt, so wird die  $\gamma$ -Aminobuttersäure-Hemmung blockiert, und die Histamin-Wirkung tritt voll in Erscheinung, die Lidspalte wird verengt.

Acetylcholin wird auch durch Dorsinase freigesetzt. 82 mM Acetylcholin verengt die Lidspalte junger Meerschweinchen deutlich. Beimischung von 0,5 bis 1 mM Strychnin hemmt die Acetylcholin-Wirkung. Die auch sehr deutliche Wirkung von 41 mM Acetylcholin wird durch Beimischung von 1 mM  $\gamma$ -Aminobuttersäure gehemmt. Zusätzliche Beimischung von 1 mM Strychnin blockiert die  $\gamma$ -Aminobuttersäure-Hemmung und läßt so die Acetylcholin-Wirkung voll in Erscheinung treten.

Ich teile jetzt Befunde von der Cornea junger und alter Meerschweinchen mit, die das Verhältnis zwischen gebundenem Acetylcholin und den sensiblen Nerven betreffen.

An der Cornea junger Meerschweinchen lösen 0,5 bis 5 mM  $\gamma$ -Aminobutyrylhistidin Verengungen der Lidspalte aus, was auf Schmerzauslösung hindeutet. Der Test auf Freisetzung von Acetylcholin (mit Eserin-Vorbehandlung) verläuft bei jungen Meerschweinchen im Bereich von 2 bis 5 mM  $\gamma$ -Aminobutyrylhistidin negativ. Das gebundene Acetylcholin wird also nicht gespalten. Bei alten Meerschweinchen, deren Cornea eine geringere Berührungsempfindlichkeit hat, verläuft der eben genannte Test auf Freisetzung von Acetylcholin von 5 bis 20 mM  $\gamma$ -Aminobutyrylhistidin positiv, d. h., es wird freies Acetylcholin gebildet.

Die Cornea wird vom ersten Trigeminasast sensibel innerviert. Dieser kommt aus dem Ganglion Gasseri, das mit seinen bipolaren Nervenzellen einem Spinalganglion entspricht. Man muß daher als Überträgersubstanz des ersten Trigeminusastes  $\gamma$ -Aminobutyrylhistidin annehmen. Das legt den Gedanken nahe, daß Beziehungen zwischen der Überträgersubstanz der innervierenden sensiblen Nerven und dem reizaufnehmenden gebundenen Acetylcholin, hier im Cornea-Epithel, durch gegenseitige Wechselwirkung entstehen.

Diese Auffassung wird durch Befunde von den Geschmacksknospen der Zunge wesentlich gestützt, obzwar hier noch weitere Untersuchungen wünschenswert sind. Wichtig sind Versuche von OAKLEY 1967 mit den Geschmacksrezeptoren auf der Zunge von Ratten. Die Rezeptoren für bitter im hinteren Teil der Zunge werden großteils vom Nervus glossopharyngeus versorgt, die Rezeptoren für süß, an der Zungenspitze, von der Corda tympani, einem Zweig des Nervus facialis. OAKLEY 1967 hat die beiden Nerven durchschnitten, die Enden vertauscht und vernäht. Nach der gekreuzten Regeneration reagierten die Geschmacksknospen an der Zungenbasis vorwiegend auf süße Stoffe, die an der Spitze der Zunge auf bittere Stoffe. Diese Feststellungen erfolgten durch elektrische Ableitung der Aktionspotentiale. Die einwachsenden Nerven bestimmen also die Reizspezifität der sekundären Sinneszellen, d. h., die sensiblen Nerven programmieren das gebundene Acetylcholin.

Versuche mit radioaktivem Cholin, die ich hier nicht ausführlich bespreche, deuten darauf hin, daß bei jungen Meerschweinchen in der Cornea  $\gamma$ -Aminobutyrylhistidin, in der Zunge mit ihren Geschmacksknospen aber  $\beta$ -Alanylhistidin und Substanz P eine Rolle spielen. Die Untersuchung der Nerven auf ihre Überträgersubstanzen und auf ihren Gehalt an Substanz P steht noch aus.

Von den motorischen Nerven ist es bekannt, daß sie dauernd kleine Acetylcholin-Portionen abgeben und dadurch die Minutur-Endplattenpotentiale erzeugen. Die sensiblen Spinalnerven geben bei künstlicher und bei natürlicher Reizung Überträgersubstanz an ihren distalen Enden ab und erzeugen dadurch die Hautrötung durch Kapillarerweiterung. Ich halte es für sehr wahrscheinlich, daß sie in der Ruhe Miniaturpakete ihrer Überträgersubstanz und eventuell von Substanz P abgeben. Die Art der Überträgersubstanz und die Menge zusätzlicher Substanz P dürften dann das gebundene Acetylcholin in den sekundären Sinneszellen auf die Reizqualität der innervierenden sensiblen Nerven programmieren. Dieses Programmieren dürfte wohl in Veränderung am Polypeptidanteil des gebundenen Acetylcholins bestehen.

Eine Untersuchung über Thymoleptika wird für den Druck vorbereitet. In ihr wird gezeigt, daß die Thymoleptika die Freisetzung von Hemmungssubstanzen blockieren, bzw. erschweren.

Eine weitere zurückgestellte Arbeit ist eine über Gehirntumore. Sie hat bisher gezeigt, daß Meningeome nur eine hemmende Substanz enthalten, die man der Glia zuschreiben kann. Die anderen Gehirntumore enthalten außer dieser Substanz noch eine Überträgersubstanz und immer nur eine. Ich möchte diese Untersuchung noch auf eine größere Anzahl von Tumoren ausdehnen und, wie es jetzt möglich ist, die Dipeptid-Überträgersubstanzen chromatographisch trennen und untersuchen, ob sie im Tumor in gebundener oder in freier Form vorkommen.

Schließlich ist noch eine Untersuchung über Thalidomid (Contergan) unvollendet. In verschiedenen Teilen des Nervensystems von Ratten setzt Thalidomid Überträgersubstanzen frei. Diese Wirkung haben auch andere chemisch ähnlich gebaute Substanzen. Nur Thalidomid hat noch bei jungen Ratten Wirkungen, die darauf schließen lassen, daß es die Synthese der Überträgersubstanz der sensiblen Nerven hemmt.

## 11. Pflanzenphysiologische Untersuchungen

Ich habe das Glück gehabt, Professor Loewi in seinem Institut kennenzulernen, ungefähr zu der Zeit, in der er seine große Entdeckung gemacht hat. Ich habe damals elektrophysiologisch gearbeitet und habe mich, angeregt durch die Resultate von Loewi, erst nach dem Zweiten Weltkrieg mit tierischen Überträgersubstanzen befaßt. Schon viel früher hat Ricca 1916 eine ähnliche, für die Pflanzenphysiologie bedeutende Entdeckung gemacht. Er fand, daß man aus Mimosa eine Substanz extrahieren kann, die, wenn sie von Sprossen von Mimosa aufgenommen wird, Blattbewegungen auslöst, so wie sie auch durch viele andere Reize ausgelöst werden. Ich hatte das Glück, Ricca wenigstens einmal kurz in Genua besuchen zu können, wahrscheinlich 1931. Gesprächsweise hat er angedeutet, daß er Mussolini nicht schätze. Wissenschaftlich hielt Ricca an seiner Ansicht fest, daß die langsame Leitung bei Mimosa durch Transport seiner Erregungssubstanz mit dem Saftstrom zustande kommt. Ich hatte schon durch 1924 begonnene Untersuchungen festgestellt, daß es bei Mimosen verschieden rasch leitende Systeme gibt, wobei aber die Leitungsgeschwindigkeit in jedem System und in jedem Teil des Blattes und im Stamm konstant ist. Das heißt, die Leitungsgeschwindigkeit ist unabhängig von der Reizstärke und von der Fortpflanzungsrichtung, ob akropetal oder basipetal. Ich hatte bei der langsamen Leitung auch Aktionspotentiale abgeleitet. Als diese mit Riccas Vorstellung von der Leitung nicht zu vereinbarenden Befunde zur Sprache kamen, hatte ich nicht den Eindruck, daß Ricca von seiner Auffassung, die langsame Leitung sei durch Transport seiner Erregungssubstanz mit dem Saftstrom bedingt, abrücke. Ich hatte damals schon mit Extrakten aus



Pflanzen verschiedener Familien Versuche über die Auslösung von Blattbewegungen an verschiedenen Sensitiven und über die Auslösung von Zellteilungen an Pericarprien von Bohnen angestellt. Ich hatte auch schon Mimosen mehrfach täglich mechanisch gereizt und gefunden, daß dadurch im Schatten das Längenwachstum stark verringert wird, während im vollen Sonnenlicht das Längenwachstum schon durch das Licht maximal gehemmt wird. Ich brachte auch das zur Sprache und wies darauf hin, daß die von Ricca entdeckte Erregungssubstanz eine Reihe wichtiger Funktionen im Leben der Pflanze habe. Ich hatte den Eindruck, daß Ricca von diesen Perspektiven nicht viel hielt.

Diese Gespräche mit Ricca haben mit dazu geführt, daß ich mit meiner Frau (K. UMRATH und Ch. UMRATH 1937) die Leitung durch Transport von Erregungssubstanz mit dem Saftstrom nochmals untersuchte. Es zeigte sich, daß bei geringer Transpiration und beim Aufschneiden kleiner Gefäße unter Eosinlösung, das Eosin viel langsamer vordringt, als sich die langsame Erregungsleitung ausbreitet, letztere kenntlich an den Gelenksreaktionen. Hingegen fanden wir, daß sich bei starker Transpiration und bei Aufschneiden großer Gefäße das Eosin in den Holzgefäßen rascher ausbreitet als die langsame Erregungsleitung.

Ich habe in dieser und in späterer Zeit viele pflanzen- und tierphysiologische Arbeiten publiziert, die nicht durch die Entdeckung von Ricca und Loewi beeinflusst waren. Es waren elektrophysiologische Untersuchungen und solche über Refraktärstadien, morphologische Auswirkungen von pflanzlicher Erregungssubstanz und von Auxin.

Von den jetzt zu besprechenden Untersuchungen sind besonders die späteren auch sachlich durch die Entdeckung von Loewi beeinflusst. Alle sind stark durch persönliche Beziehungen beeinflusst, so daß die psychologischen Zusammenhänge eine Rolle spielen. Professor Otto Loewi vom pharmakologischen Institut und Professor Friedl Weber vom pflanzenphysiologischen Institut waren einander bekannt. Frau Prof. Thaler war eine langjährige Mitarbeiterin von Prof. Weber. Ich habe Prof. Weber gut gekannt, habe viel in seiner Zeitschrift *Protoplasma* publiziert und später auch in der von ihm herausgegebenen Zeitschrift *Phyton* (Austria). Ich habe auch einige Arbeiten gemeinsam mit Prof. Weber publiziert. Nach dem Tod von Prof. Weber kam es zu einem regen wissenschaftlichen Gedankenaustausch zwischen Frau Prof. Thaler und mir. Das erste Ergebnis war die Untersuchung von LANG, THALER und UMRATH (1976) „Beitrag zum Plagiotropismus von *Veronica filiformis*“. Es handelte sich um die Pflanze, die THALER in ihrer Dissertationsarbeit näher morphologisch untersucht hatte. Es wurde meine Ansicht überprüft, daß Plagiotropismus bei überoptimalem Wuchsstoffgehalt dadurch zustande kommt, daß die Erregungssubstanz an der Oberseite horizontaler Sprosse angehäuft ist und als Antagonist des Wuchsstoffes bei überoptimalem Wuchsstoffgehalt das Wachstum fördert. Dieser Antagonismus von Erregungssubstanz und Wuchsstoff wurde von SOLTYS †, K. UMRATH und Ch. UMRATH (1938) festgestellt, in einer Arbeit, in der es dem leider früh verstorbenen Dr. Soltys gelungen war, die Erregungssubstanz der Mimosaaceen und die der Papilionaceen weitgehend zu reinigen. Frau Prof. Thaler stand der Untersuchung lange skeptisch gegenüber. Zunächst zeigte es sich, daß die Spitzen plagiotroper Sprosse wesentlich mehr Wuchsstoff an Agarblöcke abgeben als die orthotroper Sprosse. In den plagiotropen Sprossen waren die Zellen kürzer und breiter, was eine überoptimale Wuchsstoffkonzentration anzeigt. Es war bekannt, daß mechanische Reize und Licht zu Verdickung der Tangentialwände der Zellen führen (BÜNNING, HAAG und TIMMERMANN 1948). UMRATH 1960 hatte gefunden, daß an horizontal gelegten Sprossen die oberseitigen Tangentialwände verdickt werden. Daraus und aus anderen morphologischen Befunden hat er geschlossen, daß sich die Erregungssubstanz an der Oberseite anhäuft. Bei *Veronica filiformis* waren an der Oberseite die Tangentialwände der subepidermalen Kollenchym-

zellen auf das 1,8fache signifikant verdickt, die von Zellen im Phloem auf das 1,3fache, auch signifikant.

UMRATH 1966 hatte den Einfluß von Pflanzenextrakten auf die Weite der Spaltöffnungen von Blättern, die auf den Extrakten geschwommen waren, untersucht und gefunden, daß Extrakte der eigenen Unterfamilie engere Spaltöffnungen bewirken als Extrakte anderer Unterfamilien. Daraus konnte auf eine Verengung der Spaltöffnungen durch Erregungssubstanz geschlossen werden.

UMRATH, THALER und STEINER (1978) haben die Wirkung von Substanzen, von denen bekannt war oder von denen sie feststellten, daß sie bei Tieren nervöse Überträgersubstanzen freisetzen, auf die Weite der Spaltöffnungen bei *Astragalus* und bei *Mimosa* untersucht. Mit manchen dieser Substanzen haben sie auch bei *Mimosa* Blattbewegungen ausgelöst. Es zeigte sich, daß Substanzen, die bei Tieren Überträgersubstanzen freisetzen, auch die Spaltöffnungen verengen und bei *Mimosa* Blattbewegungen auslösen. 3-Indolyl-Essigsäure, Auxin, schien durch seine Eigenwirkung die Spaltöffnungen zu erweitern und sie bei höherer Konzentration durch die Freisetzung von Erregungssubstanz zu verengen. In Übereinstimmung damit, setzte es tierische Überträgersubstanzen frei. UMRATH, THALER und STEINER (1979a) haben an gesundem und an viruskrankem *Lycopersicon esculentum* die Erweiterung der Spaltöffnungen durch Auxin sicherstellen können. Die Spaltöffnungen viruskranker Pflanzen waren empfindlicher für Auxin und auch für Substanzen, die Erregungssubstanzen freisetzen.

Schließlich haben UMRATH, THALER und STEINER (1979b) bei viruskranker *Mimosa pudica* eine Herabsetzung des Gehalts an Erregungssubstanz gefunden, bei schwächer erkrankten Pflanzen auf die Hälfte, bei stark erkrankten auf ein Viertel. Ein herabgesetzter Auxingehalt viruskranker Pflanzen war bekannt. Bei stark viruskranker *Mimosa pudica* traten folgende morphologische Veränderungen auf, die auf einen verringerten Auxingehalt deuten. Die Internodien waren am Hauptsproß um 64 %, an den Seitensprossen um 78 % verkürzt. Die Stacheln waren schlecht ausgebildet und verkürzt. Die bei gesunder *Mimosa pudica* welligen Umrisse der Epidermiszellen der Blattunterseite waren bei kranken Pflanzen gerade. Der Hauptsproß wuchs unter den herrschenden Lichtverhältnissen bei den gesunden Pflanzen schräg plagiotrop, bei den kranken vertikal orthotrop.

UMRATH und THALER (1980) haben erstmals an *Lupinus*-Hypokotylen freisetzende Substanzen in Lanolin-Wasserpaste einseitig angebracht und Krümmungen zur Paste als Folge der Freisetzung der wachstumshemmenden Erregungssubstanz gedeutet. Die Wirkung der verschiedenen freisetzenden Substanzen auf die Wachstumshemmung von *Lupinus*-Keimlingen, auf die Auslösung von Blattbewegungen an *Mimosa*-Sprossen und auf die Freisetzung von nervösen Überträgersubstanzen von Tieren gingen einander weitgehend parallel.

UMRATH und THALER (1981) haben gezeigt, daß 5-Hydroxyindolyl-3-Essigsäure ungefähr dieselbe Wuchsstoff-Wirkung hat wie Indolyl-3-Essigsäure. Bei Pflanzen, deren Erregungssubstanz eine Hydroxylgruppe an ähnlicher Stelle trägt, setzt 5-Hydroxyindolyl-3-Essigsäure auch in höherer Konzentration die Erregungssubstanz nicht frei, im Gegensatz zu Indolyl-3-Essigsäure. 5-Indolyl-3-Essigsäure kommt im Harn vor, besonders in dem schwangerer Frauen und trächtiger Stuten. Solcher Harn wurde zu Beginn der Wuchsstoffforschung viel verwendet.

Diese pflanzenphysiologischen Untersuchungen bewirkten, daß ein japanischer Wissenschaftler, Prof. Dr. Shinobu Watanabe, nach Graz kam und mit mir drei kleine Arbeiten publizierte. In einer von diesen wurde gezeigt, daß die Rankenkrümmungen durch Erregungssubstanz ausgelöst werden (UMRATH und WATANABE 1983).

Von UMRATH und KASTBERGER (1983) wurden Aktionspotentiale der raschen Leitung (High-Speed conduction) bei *Mimosa pudica* und *Neptunia plena* nachgewiesen. Da diese Erregungsleitung nicht durch elektrische Reize auslösbar ist, sprechen diese Befunde für Erregungsleitung durch rasche Ausbreitung von immer neu gebildeter Erregungssubstanz, etwa durch tangentielle Bewegung im Plasmalemma. An eine solche Ausbreitung im Plasmalemma habe ich schon bei meiner Dissertation über die elektrische Erregbarkeit gedacht, als ich an ihr im Laboratorium von Otto Loewi arbeitete. Es war zu der Zeit seiner großen Entdeckung über die humorale Übertragbarkeit der Vaguswirkung auf das Herz.

BIELBERG, ESTERBAUER, HAYN und UMRATH (1984) haben die Erregungssubstanz der Mimosaceen nochmals untersucht. Sie fanden, daß die Erregungssubstanz in Blattextrakten von *Mimosa pudica* oder von *Neptunia plena* eine aliphatische Säure mit der Carboxylgruppe in trans-Stellung ist. Nur in Extrakten aus *Mimosa* konnten sie eine aromatische Substanz abtrennen, die auch Blattbewegungen an *Mimosa* auslöst, die aber wahrscheinlich nur ein Stoffwechsel-Endprodukt ist. Solche Substanzen, die bei manchen Pflanzen neben der Erregungssubstanz vorkommen und auch Erregungsvorgänge auslösen, habe ich (UMRATH 1930) schon früher, besonders auch bei *Mimosa* und *Acacia*, vermutet; sie konnten aber erst jetzt durch Säulenchromatographie und Filter, die entweder Phenole oder Säuren zurückhalten, abgetrennt werden.

Da sich gezeigt hatte, daß die Erregungssubstanz der Mimosaceen und die der Papilionaceen aliphatische Substanzen sind, habe ich (UMRATH 1985) bei drei Pflanzenfamilien mit Ranken-Pflanzen die Erregungssubstanzen mit Anwendung von Filtern untersucht. Bei zwei anderen Familien konnte die Erregungssubstanz als bekannt gelten. Bei diesen fünf Familien ergab sich die Erregungssubstanz als aromatisch. Bei den Leguminosen ist nach Umrath und Watanabe 1983 die Erregungssubstanz der Caesalpiniaceen dieselbe wie die der Papilionaceen. Es hätten dann alle drei Unterfamilien der Leguminosen aliphatische Erregungssubstanzen.

Die Erregungssubstanz ist wahrscheinlich bei den meisten Pflanzenfamilien instabil, so daß ihre Reindarstellung sehr schwer sein wird. Man kann aber hoffen, daß die Anwendung von Filtern und von Chromatographie doch noch weitere Einblicke geben wird.

### Literatur

- BAZEMORE, A. W., ELLIOT, K. A. G. & FLOREY, E. (1957): Isolation of factor I. – J. Neurochem. 1: 334–339.
- BIELBERG, W., ESTERBAUER, H., HAYN, M. & UMRATH, K. (1984): The excitatory substance of the Mimosaceae. – Phytion (Austria), 24: 1–10.
- BOHN, H. (1966): Über zwei hemmende Substanzen aus dem Zentralnervensystem der Wirbeltiere. – Z. f. Biol., 115: 228–240.
- BRECHT, K. & CORSTEN, M. (1942): Acetylcholin in sensiblen Nerven. – Pflügers Arch. ges. Physiol., 245: 160–169.
- BRÜCKE, H. v. (1938): Arch. klin. Chirurg., 192: 328.
- BRÜCKE, H. v., HELLAUER, H. F. & UMRATH, K. (1948): Sur la nature cholinergique des bourgerones gustatives de la papille foliée du lapin. – Arch. internat. de physiologie, 55: 362–365.
- BRÜCKE, H. v., HELLAUER, H. F. & UMRATH, K. (1949): Acetylcholin- und Aneuringehalt der Hornhaut und seine Beziehung zur Nervenversorgung. – Ophthalmologica, 117: 19–35.

- BÜNNING, E., HAAG, L. & TIMMERMANN, G. (1948): Weitere Untersuchungen über die formative Wirkung des Lichtes und mechanischer Reize auf Pflanzen. – *Planta* (Berl.), 36: 178–187.
- EGGART, E. & UMRATH, K. (1956): Über die Wirkung von Krampfgiften bei den verschiedenen Tiergruppen. – *Z. f. vergl. Physiol.*, 39: 133–162.
- ELLIOT, K. A. C. & FLOREY, E. (1956): Factor I – inhibitory factor from brain. – *J. Neurochem.*, 1: 181–192.
- FLOREY, ELISABETH (1952): Über das Acetylcholin in Placenta und Uterus. – Dissertation Universität Graz, 66 pp.
- FLOREY, ELISABETH (1960): Evidence for factor I containing neurones in mammalian central nervous system. Aus „Inhibitions in the Nervous System and  $\gamma$ -Aminobutyric Acid“. – Pergamon Press. Oxford–London–New York–Paris, 202–206.
- FLOREY, ERNST (1951): Vorkommen und Funktion sensibler Erregungssubstanzen und sie abbauender Fermente im Tierreich. – *Z. f. vergl. Physiol.*, 33: 327–377.
- FLOREY, ERNST (1953): Über einen nervösen Hemmungsfaktor im Gehirn und Rückenmark. – *Naturwiss.*, 40: 296–296.
- FLOREY, ERNST (1957): Further evidence for the transmitter-function of Factor I. – *Naturwiss.* 44: 424–425.
- FLOREY, ERNST & LENNAN, H. Mc (1955a): The release of an inhibitory substance from mammalian brain and its action on peripheral synaptic transmission. – *J. Physiol.*, 129: 384–392.
- FLOREY, ERNST & LENNAN, H. Mc (1955b): Effects of an inhibitory factor (Factor I) from brain on central synaptic transmission. – *J. Physiol.*, 130: 446–455.
- FLOREY, ERNST & LENNAN, H. Mc (1959): The effects of Factor I and of gamma-aminobutyric acid on smooth muscle preparations. – *J. Physiol.*, 145: 66–76.
- HAGMÜLLER, K. (1951): Die akustische Bahn und ihre indirekte Degeneration. – *Z. vergl. Physiol.*, 33: 179–194.
- HELLAUER, H. F. (1950): Sensibilität und Acetylcholingehalt der Hornhaut verschiedener Tiere und des Menschen. – *Z. vergl. Physiol.*, 32: 303–310.
- HELLAUER, H. F. & UMRATH, K. (1948): Über die Aktionssubstanz der sensiblen Nerven. – *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, 249: 619–630.
- HELLAUER, H. F. & UMRATH, K. (1948a): Die cholinerge Natur von Sinneszellen. – *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, 250: 701–705.
- HELLAUER, H. F. & UMRATH, K. (1949): Über die Beziehung zwischen Krampfauslösung und Hemmung des fermentativen Abbaues der sensiblen Erregungssubstanz durch einige Pharmaka. – *Z. f. Vitam. – Hormon- u. Fermentforsch.*, 3: 244–249.
- KURIAKI, K., YAKUSHIJI, T., NORO, T., SHIMIZU, T. & SAJI, Sk. (1958): Gamma-Aminobutyrylcholine. – *Nature*, 181: 1336–1337.
- LANG, Ch., THALER, I. & UMRATH, K. (1979): Beitrag zum Plagiotropismus von *Veronica filiformis*. – *Phyton* (Austria), 17: 281–286.
- LEMBECK, F. & GIERE, W. (1968): Otto Loewi. Ein Lebensbild in Dokumenten. – Springer-Verlag, Berlin–Heidelberg–New York.
- LISSÁK, K. & PÁSZTOR, J. (1941): Acetylcholingehalt sensibler Nerven. – *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, 244: 120–124.
- LISSÁK, K. & PÁSZTOR, J. and ENDRŐSZI, E. (1955): An inhibitory substance in neural tissue. – *Naturwiss.*, 42: 630.
- LISSÁK, K. & PÁSZTOR, J. and ENDRŐSZI, E. (1956): Presence in nerve tissue of substances inhibiting nervous function and blocking the action of chemical mediators. – *Acta Physiol. Acad. Scient. Hungaricae*, 9: 111–121.

- LOEWI, O. (1921): Über humorale Übertragbarkeit der Herznerve Wirkung. I. Mitt. – Pflügers Arch. ges. Physiol., 189: 239–242.
- LOEWI, O. (1929): Insulin und Glykämie III. – Klin. Wschr., 8: 391–393.
- LOEWI, O. (1936): Über humorale Übertragbarkeit der Herznerve Wirkung. XIV. Mitt. Quantitative und qualitative Untersuchungen über den Sympathicusstoff. – Pflügers Arch. ges. Physiol., 237: 504–514.
- LOEWI, O. & HELLAUER, H. (1938): The acetylcholin content of the nerves of warmblooded animals. – J. Physiol., 93: 34 P.
- LOEWI, O. & HELLAUER, H. (1938): Über Acetylcholin in peripheren Nerven. – Pflügers Arch. ges. Physiol., 240: 769–775.
- LOEWI, O. & NAVRATIL, E. (1926): Über die humorale Übertragbarkeit der Herznerve Wirkung. XI. Mitt. Über den Mechanismus der Vaguswirkung von Physostigmin und Ergotamin. – Pflügers Arch. ges. Physiol., 214: 689–696.
- LOEWI, O. & NAVRATIL, E. (1927): Über die humorale Übertragbarkeit der Herznerve Wirkung. XII. Mitt. Ergotamin und Accelerans. – Pflügers Arch. ges. Physiol., 217: 610–617.
- OAKLEY, B. (1967): Altered taste responses from cross-regenerated taste nerves in the rat. – In Olfaction and Taste, herausgeg. von T. Hoyashi, Pergamon Press.
- OER, S. v. (1961): Über die Beziehung des Acetylcholins des Hornhautepithels zur Erregungsübertragung von diesem auf die sensiblen Nerven. – Pflügers Arch., 273: 325–334.
- RICCA, U. (1916): Soluzione di un problema di fisiologia. La propagazione di stimulo nella *Mimosa*. Nuovo Giorn. bot. ital., N. S. 23, 51. und 1916. Solution d'un probleme de physiologie. La propagation de stimulus dans la *Sensitive*. – Arch. ital. Biol. (Pisa), 65: 219–232.
- RIEDEL, R. (1962): Über Substanzen, die an regenerierenden Nerven Erregungsvorgänge hervorrufen. – Z. vergl. Physiol., 45: 355–375.
- SILBERBAUER, I. & UMRATH, K. (1965): Über eine neue nervöse Überträgersubstanz aus dem Kleinhirn, über das Vorkommen nicht cholinergere Überträgersubstanzen im Zentralnervensystem der Wirbeltiere und über deren Empfindlichkeit gegen Reserpin. – Z. Biolog., 115: 40–55.
- SOLTYS, A., UMRATH, K. & UMRATH, CH. (1938): Über Erregungssubstanz, Wuchsstoff und Wachstum. Protoplasma 31, 454–480.
- UMRATH, K. (1930): Über Erregungssubstanzen. – Jb. wiss. Bot., 73: 609–621.
- UMRATH, K. (1953): Der fermentative Abbau der Erregungssubstanz der sensiblen Nerven, seine pH-Abhängigkeit und seine Hemmung durch zentral erregende Stoffe. – Arch. exper. Path. u. Pharmakol., 219: 148–155.
- UMRATH, K. (1961): Über die Rolle der Erregungssubstanz beim Geotropismus der Sprosse. – Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 73: 380–385.
- UMRATH, K. (1961a): The relation of substance P to neurotransmitter substances. – Scient. Soc. Bosnia a. Herzegovina–Yugoslavia. – Proc. 1, Departm. of Med. Sci., 1: 23–27.
- UMRATH, K. (1966): Durch Erregungssubstanz ausgelöste Spaltöffnungsschließbewegung. – Z. f. Pflanzenphysiol., 55: 217–223.
- UMRATH, K. (1979a): Alanin-Dipeptide als nervöse Überträgersubstanzen und die Freisetzung der Dipeptide unter den Überträgersubstanzen in Extrakten und im lebenden Tier. – In: Nervöse Überträgersubstanzen und ihre Freisetzung. Drei Zoophysiologische Beiträge, Hg.: Naturwiss. Ver. Steiermark, 5–37.

- UMRATH, K. (1979b): Freies und gebundenes 5-Hydroxytryptamin und ihre unterschiedlichen Wirkungen. – In: Nervöse Überträgersubstanzen und ihre Freisetzung. Drei Zoophysiologische Beiträge, Hg., Naturwiss. Ver. Steiermark, 38–48.
- UMRATH, K. (1984): Liberation of Xanthoxin. – *Phyton (Austria)*, 24: 79–85.
- UMRATH, K. (1985): Comparative investigations on the excitatory substances of some plant families according to experiments with tendrils. – *Phyton (Austria)* 24, im Druck.
- UMRATH, K. & BOHN, H. (1963): Über die freie und die gebundene zentralnervöse Hemmungssubstanz der Wirbeltiere. – *Pflügers Arch.*, 277: 523–536.
- UMRATH, K. & FÜRST, G. (1976): Identifizierung der Überträgersubstanz der sensiblen Nerven als  $\gamma$ -Aminobutyryl-L-histidin. – *Zool. Jb. Physiol.*, 80: 274–295.
- UMRATH, K. & GRALLERT, M. (1967): Über nervöse Hemmungssubstanzen der Wirbeltiere und über Wirkungsmechanismen von Psychopharmaka. – *Z. f. Biolog.* 115: 322–364.
- UMRATH, K. & HELLAUER, H. F. (1948): Das Vorkommen der sensiblen Substanz und von Aktionssubstanzen abbauenden Fermenten. – *Pflügers Arch.*, 250: 737–746.
- UMRATH, K. & HELLAUER, H. F. (1951): Über trophische Wirkungen sensibler Neurone im Nervensystem. – *Dtsch. Z. Nervenheilkde.*, 165: 409–429.
- UMRATH, K. & KASTENBERGER, G. (1983): Action potentials of the High-Speed conduction in *Mimosa pudica* and *Neptunia plena*. – *Phyton (Austria)*, 23: 65–78.
- UMRATH, K. & KIM, D.-S. (1974): Der Einbau von  $^{14}\text{C}$ - $\gamma$ -Aminobuttersäure und  $^{14}\text{C}$ -Cholin in  $\gamma$ -Aminobutyrylcholin von Hirnschnitten. – *Zool. Jb. Physiol.*, 78: 560–567.
- UMRATH, K. & KLEMENCIC, E. (1963): Nervöse Überträgersubstanzen und ihr fermentativer Abbau. – *Z. vergl. Physiol.*, 46: 395–429.
- UMRATH, K. & MÜSSBICHLER, H. (1951): Die Blockierung der Erregungsübertragung von sekundären Sinneszellen auf die sensiblen Nerven und die Herabsetzung der Hornhautempfindlichkeit durch Atropin. – *Z. Vitam.-Hormon- u. Fermentforsch.*, 4: 182–190.
- UMRATH, K. & THALER, I. (1980): Auslösung von Blattbewegungen bei *Mimosa* und von Krümmungen von *Lupinus Hypokotylen*, gedeutet durch Freisetzung von Erregungssubstanz und Auxin. – *Phyton (Austria)*, 20: 333–348.
- UMRATH, K. & THALER, I. (1981): 5-Hydroxyindolyl-3-Essigsäure als ein Auxin. – *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, 94: 143–149.
- UMRATH, K., THALER, I., & STEINER, G. (1978): Die Freisetzung von Erregungssubstanz bei Pflanzen durch Stoffe, die bei Tieren Überträgersubstanzen freisetzen. – *Phyton (Austria)* 19: 12–25.
- UMRATH, K., THALER, I., & STEINER, G. (1979a): Verringerter Gehalt an Erregungssubstanz und morphologische Veränderungen bei viruskranker *Mimosa pudica*. – *Phyton (Austria)* 19: 247–251.
- UMRATH, K., THALER, I., & STEINER, G. (1979b): Die Wirkung von 3-Indolyl-Essigsäure auf die Spaltöffnungsweite. – *Phyton (Austria)* 19: 253–258.
- UMRATH, K. & UMRATH, Ch. (1937): Über die Rolle des Saftstromes bei der Reizfortpflanzung in den Blättern von *Mimosa pudica* und *M. spegazzini*. – *Jb. wiss. Bot.* 85: 698–705.
- UMRATH, K. & WATANABE, Sh. (1983): The hormonal basis of tendril coiling. – *Phyton (Austria)* 23: 307–312.

Anschrift des Verfassers: Univ.-Prof. Dr. Karl UMRATH, Zoologisches Institut der Universität Graz, Universitätsplatz 2, A-8010 Graz (Österreich).

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen des naturwissenschaftlichen Vereins für Steiermark](#)

Jahr/Year: 1984

Band/Volume: [114](#)

Autor(en)/Author(s): Umrath Karl

Artikel/Article: [Die Entdeckung von Otto Loewi von der humoralen Übertragbarkeit der Vaguswirkung auf das Herz und ihr mutmaßlicher Einfluß auf die Arbeiten aus dem Grazer Kreis. 17-38](#)