XX.

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Greifswald.

(Direktor Prof. Dr. Morawitz.)

Beitrag zur Lehre von der Verfettung parenchymatöser Organe.

II. Mitteilung.

Von

Prof. Dr. Oskar Groß und Dr. Friedrich Vorpahl.

(Mit 1 Abbildung.)

In unserer ersten Veröffentlichung¹⁾ haben wir gezeigt, daß bei der Bebrütung fettfreier Nierenrinde von Kaninchen nach Art der Carrel'schen Methode Fett auftreten kann, wir haben ferner erörtert, warum es sich um eine Fettbildung an Ort und Stelle handeln muß, und warum das Fett unmöglich von außen eingedrungen sein kann. Als Hauptbeweis hierfür führten wir die Tatsache an, daß wir auch dann in unseren Schnitten Fett nachweisen konnten, wenn wir die Bebrütung, statt in Plasma, in Ringerlösung vornahmen. Es blieb also nur noch die Frage zu entscheiden, ob es sich in unseren Versuchen um eine »Phanerose« von Fett handelte, d. h. ob nur »maskiertes«, vorher schon vorhandenes Fett zutage getreten ist, oder ob es sich tatsächlich um eine Fettbildung aus Eiweiß handelt.

Die Frage der Fettbildung aus Eiweiß hat eine große Literatur heraufbeschworen, die hier zu nennen zu weit führen würde. Wiederholt haben sich die Tagungen der deutschen Pathologischen Gesellschaft mit dieser wichtigen Frage beschäftigt, und das Hauptergebnis der in den letzten Jahren hierauf gerichteten Studien schien dies zu sein, daß eine Fettdegeneration im Virchow'schen Sinne zur Unmöglichkeit gehört, daß es sich vielmehr bei der sog. fettigen Degeneration um eine Infiltration von Körperfett in degeneriertes Gewebe handele. Die degenerierte Zelle sucht ihren Zellbestand dadurch zu wahren,

1) Dieses Archiv Bd. 76, S. 336—344.

daß sie zirkulierendes Fett in sich aufnimmt. Ja sogar die Tatsache, daß die »verfetteten« Organe fettreicher sind, als normale wurde bestritten, vor allem durch die Untersuchungen Rosenfelds(1), die wir bereits an anderer Stelle angeführt haben. Es bestehen nach seinen Untersuchungen weitgehende Unterschiede zwischen morphologischen Veränderungen verfetteter Organe und ihrem Fettgehalt. Trotz reichlicher mikroskopischer Verfettung fand sich nicht mehr Fett als in den nicht verfetteten Organen. Ob man aber daraus, wie es Rosenfeld tut, den Schluß ziehen muß, daß nur die chemische Analyse über die Frage der Verfettung Antwort geben kann, daß die Schätzung des Fettes nach mikroskopischen Bildern zur Klärung der Fettfrage nicht beitragen kann, erscheint fraglich. Wenn manche Autoren annehmen, daß jedes Sichtbarwerden von Fett in degenerierten Organen als eine Infiltration aufzufassen sei, so glaubt Rosenfeld aus seinen Analysen den Schluß ziehen zu können, daß es neben der Infiltration auch eine »Phaneroze« (Klemperer) von Fett gibt, d. h. das Fett war schon vorher in maskierter, präformierter Form in der Zelle vorhanden, es ist nur in eine mit unseren mikroskopischen Methoden nachweisbare Verbindung übergegangen, so daß es im mikroskopischen Bild sichtbar gemacht werden kann. So kommt es, daß man in verfetteten Organen keine größere Ausbeute an Fett bekommt als in nicht verfetteten. Das mikroskopische Bild täuscht. Orgler bestätigte Rosenfelds Untersuchungen. Auch er fand trotz hohen mikroskopischen Fettgehaltes niedere Analysenwerte für Fett.

Dietrich(2) untersuchte den Fettgehalt an Organstückchen, die er in die Bauchhöhle implantiert hatte, und die in den Randpartien Verfettung zeigten. Diese Versuche haben wir schon in der ersten Arbeit erwähnt. Wurde zunächst aus der Tatsache, daß das Fett nur in den Randpartien zu sehen war und daß es ganz fehlte, wenn er die implantierten Stücke in Kollodiumsäckchen einschloß, der Schluß gezogen, daß es sich nur um von außen eingewandertes Fett handeln könnte, so zeigten Analysen aus derartig gewonnenen Präparaten Dietrich, daß analytisch eine Fettansammlung nicht vorlag, daß sogar oft eine gewisse Fettverarmung bestand. Die Fettanhäufung am Rande sollte die Folge einer Resorption fettartiger Substanzen aus dem umgebenden Gewebe sein.

Andererseits wurden immer wieder Stimmen laut, die für die Möglichkeit einer Bildung von Fett aus Eiweiß eintraten. Es seien hier nur die Versuche von Weinland(3) erwähnt, der den Beweis einer Möglichkeit der Entstehung von Fett aus Eiweißkörpern erbracht hat.

Ziehen wir aus diesen Betrachtungen das Fazit, so müssen wir eingestehen, daß die Frage der Möglichkeit einer Fettbildung aus Eiweiß zum mindesten noch unentschieden ist. Kann die Zelle aus Fett Eiweiß bilden? Ist das, was wir als Fettdegeneration bezeichnen, stets eine Fettinfiltration, oder nur eine Phanerose präformierten Fettes? Das sind alles Fragen, deren Beantwortung noch aussteht.

Wir glauben nun in unserer ersten Arbeit den Beweis dafür erbracht zu haben, daß das sichtbare Auftreten von Fett in Parenchymzellen — natürlich nur, soweit es sich nicht um eine physiologische Fettinfiltration handelt — eine Funktion der lebenden Zelle ist, d. h. daß die Fettbildung nur dann auftritt, wenn die Zelle noch unter gewissen, wenn auch mangelhaften Ernährungsbedingungen steht, daß ferner zur Erhaltung dieser mangelhaften Zelltätigkeit die Ernährung durch Ringerlösung genügt. Wir versuchten daher die uns interessierende Frage an der überlebenden, mit Ringerlösung durchspülten Niere des Kaninchens zu lösen. Wir versuchten den Fettgehalt der Rinde beider Nieren eines Tieres getrennt zu bestimmen, und zwar einmal direkt, einmal nachdem wir die Niere ein- bis zweimal 24 Stunden mit Ringerlösung durchspült hatten. Wenn es gelingt, im mikroskopischen Bild durch Ausbrütung in Ringerlösung »Zellverfettung« zu erzielen, so muß das auch gelingen, wenn man die Niere mittels Durchspülen von Ringerlösung überleben läßt.

Es sei hier auf Versuche hingewiesen, die Leo (4) an der überlebenden Leber anstellte. Die Leber wurde in zwei Teile geteilt, die beiden Teile verschieden durchspült, und zwar der eine Teil als Kontrolle mit Ringerlösung, der andere Teil mit Ringerlösung, der Substanzen zugesetzt waren, von denen es bekannt ist, daß sie im lebenden Organismus »Verfettung« verursachen. Benutzt wurden die Lebern von Schildkröten und Kaninchen. Wesentliche Unterschiede wurden nicht gefunden, die Frage ließ sich so nicht entscheiden. Wir bedienten uns zu unserem Versuchszwecke eines einfachen, eigens zu unseren Versuchen konstruierten Apparates, der es gestattet, das Organ in genau konstanter Temperatur mit körperwarmer Flüssigkeit lange Zeit ohne besondere Aufsicht zu durchspülen. Der Apparat sei im folgenden kurz beschrieben.

Der Apparat besteht aus einem äußeren Topf aus Zink, der auf einem Dreifuß steht. In ihm ist ein zweiter kleinerer Zinktopf befestigt, der an seinem tiefsten Punkt einen durch den äußeren Mantel führenden Abfluß hat. Der äußere Topf ist mit körperwarmem Wasser gefüllt, außerdem geht durch ihn eine Wärmeschlange aus Glas, durch die die Ringerlösung durchfließt, ehe sie in das Organ durchgeleitet wird. Die Niere hängt in

dem inneren kleinen Gefäß, wird auf diese Weise körperwarm gehalten und mit körperwarmer Ringerlösung durchspült. Ein mit einer kleinen Heizflamme verbundener Thermoregulator sorgt dafür, daß die Temperatur des Wassermantels stets konstant bleibt. Die verbrauchte Ringerlösung fließt durch den Abfluß nach außen ab, wo sie eventuell aufgefangen werden kann. Der Apparat kann von jedem Klempner billig hergestellt werden.

Figur 1.

Die Versuchstiere wurden durch Nackenschlag getötet, der Bauch eröffnet, in die Nierenarterie der einen Seite eine feine Glaskanüle eingebunden, mit einer Rekordspritze zum Vertreiben der darin enthaltenen Luft sorgfältig Ringerlösung eingespritzt und in den Apparat gebracht. Hier blieb die Niere ein- bis zweimal 24 Stunden. Die andere Niere wurde direkt zur Verarbeitung genommen.

Zur Bestimmung des Fettes in den Rindenpartien der zu untersuchenden Organe wurde mit einer Schere die Rinde sorgfältig nach Abziehen der Kapsel abgetragen, indem besonders darauf geachtet wurde, daß wirklich nur die Rinde entfernt wurde. Die so

gewonnenen Stücke — sowohl der frischen als auch der durchspülten Nieren — wurden auf einem Uhrglas gesammelt und bei einer Temperatur von 50—60° getrocknet. Danach wurden sie zu einem feinen Pulver in einer Reibschale zerrieben und gewogen. Da besonders die Rindensubstanz kleiner Tiere für eine Analyse zu gering ist, brauchten wir bei einer Reihe von Versuchen die zusammen verarbeiteten Nieren mehrerer Tiere, so daß die frisch gewonnenen und die durchspülten Nieren mehrerer Kaninchen zu je einer Analyse zur Verarbeitung kamen.

Zur Fettbestimmung benutzten wir zunächst die einfache Extraktion des Nierenrindenpulvers im Soxhlet-Apparat mit wasserfreiem Äther. Da dieses Verfahren zunächst nur zu unserer Orientierung dienen sollte und bekanntlich recht erhebliche Fehlerquellen in sich schließt, so brauchten wir fernerhin das von Rosenfeld angegebene Verfahren der Alkohol-Chloroformextraktion. Aber auch diesem Verfahren haften nach Glikin (5), Kumagawa-Suto (6) recht erhebliche Mängel an, die besonders darin bestehen, daß außer dem Fett auch noch andere Substanzen, vor allem stickstoffhaltige, extrahiert werden, andererseits nicht alle Fettprodukte in den Extrakt übergehen (Waldvogel 7). Wir benutzen daher, um schließlich von vornherein allen Einwänden zu begegnen, die wohl jetzt am meisten angewandte Methode von Kumagawa-Suto. Dieses Verfahren, das alle Fette und fettähnlichen Substanzen nach vorheriger Verseifung bestimmt, soll hier nicht näher beschrieben werden.

Gleich hier möchten wir aber erwähnen, daß wir mit allen drei Verfahren prinzipiell dasselbe Resultat erhielten. Wir unterlassen es daher auf eine Kritik der Methoden einzugehen, da das Prinzipielle in der Versuchsanordnung liegt.

Daß bei den meisten Versuchen Nierenstücke zur mikroskopischen Untersuchung entnommen wurden, ist selbstverständlich. Hierauf kommen wir noch später zu sprechen.

Im folgenden mögen einzelne Versuchsprotokolle, die alle auszuführen zu weit führen würde, folgen:

Versuch 1.

Kaninchen, durch Nackenschlag getötet.

a) Kaninchenniere direkt entnommen. Rinde abgetragen, getrocknet.

Mikroskopische Untersuchung eines Kontrollstückes zeigt nirgends Fett. 0,387 g trockenes Pulver. Ätherextraktion im Soxhlet-Apparat. Extrakt. 0,049 = **12,6%** der Trockensubstanz.

b) Linke Niere 15 Stunden mit Ringerlösung durchspült,

Mikroskop: Osmiumfärbung } deutliche Fettreaktion.
Sudanfärbung }

Rinde vorsichtig abgetragen, getrocknet. Zur Extraktion 0,294 g Trockensubstanz, Ätherextraktion im Soxhlet-Apparat. Extrakt. 0,055 g = **18,7%** der Trockensubstanz.

Versuch 2.

Kaninchen, durch Nackenschlag getötet.

a) Rechte Niere direkt entnommen. Rinde abgetragen, getrocknet. 0,401 g trockenes Pulver.

Ätherextraktion im Soxhlet-Apparat. Extrakt. = 0,047 g = **11,7%** der Trockensubstanz.

b) Linke Niere 17 Stunden mit Ringerlösung durchspült. Rinde abgetragen, getrocknet. 0,421 g trockenes Pulver.

Ätherextraktion im Soxhlet-Apparat. Extrakt. = 0,081 g = **19,2%** der Trockensubstanz.

Versuch 3.

Bestimmung des Fettes nach Rosenfeld. Kaninchen durch Nackenschlag getötet.

a) Niere direkt zur Untersuchung entnommen. Rinde abgetragen, getrocknet. 0,293 g trockenes Pulver.

Extrakt. 0,0316 g = **10,8%** der Trockensubstanz.

b) Niere 24 Stunden mit Ringerlösung durchspült. Rinde abgetragen, getrocknet. 0,301 g trockenes Pulver.

Extrakt. 0,0518 g = **17,2%** der Trockensubstanz.

Versuch 4.

Analysen nach Kumagawa-Suto. Alter Hund, Teckel, sehr fettreich. Beiderseits Granularatrophie der Niere. Es ist dies der einzige an

Hundenieren ausgeführte Versuch. Werte über den Normalfettgehalt der Hundeniere können wir daher nicht geben.

a) Rechte Niere direkt entnommen. Rinde abgetragen, getrocknet. Mikroskopisch enthielt auch diese Niere Fett. Zur Fettbestimmung 2,220 g Trockensubstanz. Darin Fett 0,278 g = $12,5\%$ der Trockensubstanz.

b) Linke Niere wurde 24 Stunden mit Ringerlösung durchspült. Rinde abgetragen, getrocknet. 1,315 g. Trockensubstanz. Darin Fett 0,275 g = $20,8\%$ der Trockensubstanz.

Daß die Trockensubstanzmenge der durchspülten Niere meist etwas geringer ist, als die der frischen Niere, hat seinen Grund darin, daß die durchspülten Nieren ödematös aussehen und dadurch die Grenze zwischen Rinde und Mark verschwommen war. Es wurde daher mit besonderer Vorsicht, unter besonderer Schonung des Markes vorgegangen, in dem Bestreben, lieber etwas weniger Substanz zur Bestimmung zu erhalten. Daher scheinen die Werte für die gewonnene Trockensubstanz etwas niedriger. Wir weisen ausdrücklich bei diesem Versuch darauf hin, daß auch in der frisch entnommenen Niere mikroskopisch Fett nachweisbar war. Das ist übrigens bei Hunden meistens der Fall. Aber es dürfte kein Zufall sein, daß wir in der durchspülten Niere, in der wir auch analytisch erheblich mehr Fett finden, mikroskopisch ein ganz anderes Bild der Verfettung bekamen. Fanden wir in der direkt untersuchten Niere nur einzelne Fetttropfen, die nur an manchen Stellen in etwas größeren Mengen angehäuft waren, so war andererseits in der durchspülten Niere das Fett in dichten Schollen abgelagert, das mit Sudan gefärbte Präparat war schon makroskopisch rot, alle Zellen der Glomeruli und Tubuli waren mit Fett direkt vollgepfropft. Der Unterschied war ganz außerordentlich groß. Trotzdem sahen wir in der Folge davon ab, Hundenieren zu benutzen, da hier normalerweise schon Fett vorhanden ist, und wir uns dem Vorwurf eines zufälligen Verhaltens entziehen wollten.

Versuch 5.

Kaninchen, durch Nackenschlag getötet.

a) Eine Niere sofort entnommen, mit kalter Ringerlösung ein paar Minuten durchspült, um die Niere blutfrei zu machen. Rinde abgetragen, getrocknet.

0,462 g Trockensubstanz, zur Fettbestimmung nach Kumagawa-Suto darin Fett = 0,052 g = $11,25\%$ der Trockensubstanz.

b) Andere Niere 14 Stunden mit Ringerlösung durchspült. Rinde abgetragen, getrocknet. 0,396 g Trockensubstanz zur Fettbestimmung nach Kumagawa-Suto, darin Fett 0,075 g = 19% der Trockensubstanz.

Versuch 6.

Verarbeitet wurden die Nieren von je drei Kaninchen.

a) Direkte Verarbeitung wie oben. Mikroskopisch kein Fett. 2,107 g Trockensubstanz, darin (nach Kumagawa-Suto) 0,240 g Fett = **11,3%** der Trockensubstanz.

b) Die drei Nieren der anderen Seite 24 Stunden durchspült. Mikroskopisch nur in einer Niere Neutralfett nachweisbar, in den beiden anderen nicht. 1,266 g Trockensubstanz, darin Fett 0,211 g = **16,6%** der Trockensubstanz.

Versuch 7.

Nieren von drei Kaninchen.

a) Die der einen Seite direkt verarbeitet. Rinde abgetragen. 2,31 g Trockensubstanz, darin Fett 0,284 g = **12,3%** der Trockensubstanz.

b) Die Nieren der anderen Seite 17 Stunden durchspült. 2,43 g Trockensubstanz, darin Fett = 0,479 g = **19,7%** der Trockensubstanz.

Betrachten wir diese Versuche, so sehen wir, daß wir in der künstlich nachgespülten Niere in allen Fällen eine wesentliche Vermehrung der Fette vor uns haben, einerlei, welche Methode der Fettbestimmung wir in Anwendung bringen. Wir könnten noch weitere Versuchsprotokolle als Beispiele bringen, glauben aber, daß die beschriebenen Versuche genügen. Sie stehen durchaus im Einklang mit unseren in der ersten Veröffentlichung niedergelegten Versuchsergebnissen. Es bleibt noch übrig einigen Einwänden zu begegnen, die man unserer Versuchsanordnung machen könnte: Zunächst könnte man einwenden, daß es sich nur um eine scheinbare Vermehrung des Fettes handelt, daß durch den Durchspülungsvorgang Eiweißkörper oder jedenfalls Substanzen, die bei der Fettbestimmung nicht mitbestimmt werden, ausgewaschen werden, daß es dadurch zu einer relativen Vermehrung des Fettes kommt. Diesen Einwand, den wir voraussahen, hat uns Rosenfeld in der Tat auf dem Kongreß für Innere Medizin, wo wir über unseren Versuch kurz berichteten, auch gemacht. Dem widerspricht aber schon die Tatsache, daß wir in der abgetragenen Rinde in manchen Versuchen nicht nur relativ, sondern auch absolut mehr Fett bekamen, als in der frisch untersuchten. Nun ist ja das Abtragen der Rinde kein quantitatives Vorgehen und auch nicht als Beweis anzusehen. Wir mußten also den Beweis erbringen, daß es sich nicht um eine Anschwemmung von Substanzen und dadurch bedingte Fettvermehrung handelt. Zu diesem Zweck wurden beide Nieren unter sonst gleichen Bedingungen durchspült, nur mit dem Unterschied, daß die eine Niere warm gehalten wurde und die Durchspülungsflüssigkeit in unserem Apparat Körpertemperatur erhielt, die andere Niere aber in einem zweiten ungeheizten Apparat,

also bei Zimmertemperatur, durchspült wurde. Wenn es sich um eine Ausschwemmung von Nierensubstanz handelt, so müssen wir in beiden Fällen genau dasselbe Resultat erhalten. Bei dem an sich geringen Temperaturunterschied von 18° ist nicht anzunehmen, daß etwa die wärmere Lösung wesentlich mehr ausschwemmen kann, als die bei Zimmertemperatur gehaltene.

Das Resultat dieses Versuches zeigt Protokoll Nr. 7.

Versuch 8.

Nieren von Kaninchen.

a) Niere der einen Seite kalt durchspült. 24 Stunden. Nierenrinde abgetragen, getrocknet, pulverisiert. Fettbestimmung nach Kumagawa-Suto. Trockensubstanz 0,501 g, darin Fett 0,0515 g = **10,27 %** der Trockensubstanz.

b) Andere Niere körperwarm, mit Ringerlösung durchspült, 24 Stunden. Nierenrinde abgetragen, getrocknet, pulverisiert. Fettbestimmung nach Kumagawa-Suto. Trockensubstanz 0,482 g, darin Fett 0,084 g, **17,4 %**.

Ein zweiter entsprechend angestellter Versuch ergab dasselbe Resultat. Die Versuche zeigen, daß die Fettvermehrung nicht als eine relative aufzufassen ist, sondern daß in der Tat mehr Fett in der warm durchspülten Niere vorhanden ist. Selbst wenn die warme Ringerlösung in höherem Grade imstande wäre, Substanzen aus der Niere auszuspülen und so eine Fettvermehrung vorzutäuschen, als die zimmerwarme Lösung — was unwahrscheinlich ist —, so kann man doch unmöglich annehmen, daß die zimmerwarme Ringerlösung überhaupt nicht imstande sein sollte, etwas auszuwaschen. Das ist unmöglich. Und da wir in der mit kalter Ringerlösung durchspülten Niere durchaus dieselben Fettwerte fanden, wie gewöhnlich, so kann man mit Sicherheit annehmen, daß dieser Einwand hinfällig ist, daß eine Ausschwemmung der Niere in höherem Grade nicht statthaben kann. Ein zweiter Einwurf scheint zunächst schwieriger zu beantworten.

Wenn es auch in einer Reihe von Versuchen gelang, in der durchspülten Niere im Gegensatz zu der frisch bearbeiteten, Neutralfett nachzuweisen, so glückte uns das durchaus nicht in allen Fällen. Das erschien auffällig; bei näherer Überlegung sagten wir uns aber, daß, wenn aus Eiweiß Fett gebildet wird, nicht angenommen werden kann, daß das ganze Neutralfett aus Eiweiß gebildet wird, sondern nur die Fettsäure. Das Glycerin dürfte wohl aus anderen löslichen Substanzen entstehen; wenn auch eine Ausschwemmung von Eiweißkörpern uns ausgeschlossen erscheint, so können leicht lösliche Körper,

z. B. Kohlehydrate, sehr wohl durch die Ringerlösung entfernt werden, es ist sogar anzunehmen, daß das geschieht; doch sind die Mengen viel zu gering, als daß man das quantitativ nachweisen könnte, so daß dadurch eine Verschiebung der Verhältnisse einträte, derartig, daß es zu einer relativen Vermehrung des Fettes käme. Werden aber diese Körper ausgewaschen, so fehlt es an einem Substrat für das Glycerin, so daß es nicht zur Neutralfettbildung kommen kann.

Diese theoretische Anschauung erklärt vollkommen, warum man nur in manchen Fällen Neutralfett nachweisen kann. Wir setzten nun der Ringerlösung im Verhältnis 1:5000 bis 10000 Glycerin zu, um zu sehen, ob die überlebende Zelle imstande ist, dieses Glycerin an die von ihr gebildete Fettsäure zu binden. In allen Fällen, in denen wir diesen Versuch machten, gelang es uns leicht, Neutralfett nachzuweisen. Wir glauben daher, daß unsere Anschauung zu Recht besteht.

Fassen wir das Ergebnis unserer Untersuchungen zusammen, so können wir folgendes sagen:

1. In künstlich körperwarm durchspülten Nieren läßt sich nach der Methode nach Kumagawa-Suto, aber auch nach Rosenfeld und mit einfacher Ätherextraktion, eine sichere Fettvermehrung nachweisen.

2. Diese Fettvermehrung kann nicht eine scheinbare, durch relative Vermehrung des Fettgehaltes der Organe infolge von Ausschwemmung von Eiweißsubstanz sein.

3. Das gebildete Neutralfett ließ sich in manchen Fällen mikroskopisch nachweisen. Stets ist dies der Fall, wenn man der Durchspülungsflüssig Glycerin zusetzt.

Wir schließen also aus unseren Versuchen, daß die Zelle sehr wohl imstande ist, aus Eiweiß Fettsäure zu bilden und glauben, den Beweis hierfür erbracht zu haben.

Literatur.

1. Rosenfeld, Verhandlungen des Kongresses für Innere Medizin 1897, 1902; Verhandlung der Patholog. Gesellschaft 1903. — 2. Dietrich, Lubarsch-Ostertag, Ergebnisse der Pathologie Bd. XIII; Münch. med. Wochenschr. 1904. — 3. Weinland, Zeitschr. f. Biolog. Bd. 51, S. 197. — 4. Leo, Biochem. Zeitschr. Bd. 48, S. 297. — 5. Glikin, Pflügers Archiv 95, S. 207. — 6. Kumagawa-Suto, Biochem. Zeitschr. Bd. 8, S. 212. — 7. Waldvogel, Virchows Archiv 177, S. 1.
-