

Über den Stickstoffumsatz der nervösen Zentralorgane.

Von

Else Hirschberg und Hans Winterstein.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Rostock.)

(Der Redaktion zugegangen am 7. Januar 1918.)

In einer vorangehenden Mitteilung¹⁾ haben wir das Vorhandensein eines Kohlenhydratstoffwechsels im Zentralnervensystem nachgewiesen, durch die Feststellung eines von der Lebenstätigkeit abhängigen und mit deren Intensität veränderlichen Zuckerumsatzes. Im folgenden soll die Frage behandelt werden, ob auch ein Umsatz N-haltiger Substanzen in den nervösen Zentralorganen nachweisbar ist. Als Versuchsobjekt diente wieder das isolierte Froschrückenmark, bezüglich dessen Präparation auf die in der zitierten Arbeit enthaltenen Angaben verwiesen sei.

Methodik. Unter den zur Bestimmung des Stickstoffgehaltes in einem so kleinen Organ zur Verfügung stehenden Mikromethoden wurde als die einfachste und handlichste die Mikro-Kjeldahl-Methode gewählt, die kürzlich von Abderhalden und Fodor²⁾ beschrieben wurde, und die eine getreue Nachahmung des Makro-Kjeldahl in entsprechend verkleinertem Maßstabe darstellt, bei der jedoch an Stelle des Überdestillierens des Ammoniaks eine Überführung desselben durch Durchsaugen von Luft durch die von der Neutralisation der Schwefelsäure erhitzte Lösung erfolgt. Die Methode hat sich, genau nach den Angaben der Autoren durchgeführt (nur unter Verwendung von Methylorange statt von alizarinsulfosaurem

¹⁾ E. Hirschberg und H. Winterstein, Über den Zuckerstoffwechsel der nervösen Zentralorgane. Diese Zeitschr., Bd. 100, S. 185 (1917).

²⁾ E. Abderhalden und A. Fodor, Mikro-Kjeldahl-Methode. Ebenda Bd. 98, S. 190 (1917).

Natrium als Indikator bei der Titration und zur Herstellung des «Indikatorwassers»), vortrefflich bewährt. Eine Zeitlang standen uns statt der sonst stets verwendeten 50 ccm fassenden Kjeldahl-Kolben (von Schott & Co.) nur solche mit 100 ccm Inhalt zur Verfügung. Es zeigte sich, daß hier die Gefahr einer unvollständigen Austreibung des Ammoniaks sehr viel größer ist, hauptsächlich infolge der zu raschen Abkühlung der geringen Flüssigkeitsmenge in dem großen Kolben. Durch Eintauchen desselben (nach erfolgter Neutralisation) in ein Wasserbad von etwa 60—70° konnte dieser Übelstand beseitigt und auch hier eine ausreichende Genauigkeit erzielt werden; doch sind kleine Kolben unter allen Umständen vorzuziehen.

N-Gehalt des Rückenmarks. Der Gesamtstickstoffgehalt des gleich nach der Präparation oder nach kurzer Aufbewahrung in einer feuchten Kammer gewogenen, von der Pia umhüllten Rückenmarks schwankte zwischen 1,28 (einmal 1,27) als unterer und 1,34 (je einmal 1,35 und 1,36) Prozent der frischen Substanz als oberer Grenze und betrug im Mittel von 31 Bestimmungen genau 1,30 %. (In 5 Versuchen ausgeführte Doppelanalysen desselben Rückenmarks zeigten als größte Differenz 0,05 %).¹⁾ Der in 8 Versuchen bestimmte N-Gehalt des von seiner Gefäßhaut befreiten Rückenmarks schwankte zwischen 1,24 und 1,27 % und betrug im Mittel 1,25 % der frischen Substanz, mithin etwas weniger, was auf einen relativ hohen N-Gehalt der Gefäßhaut hinweist.

N-Umsatz in 24 Stunden. Die Feststellung des Stickstoffumsatzes erfolgte in der Weise, daß das Rückenmark durch quere Durchschneidung in zwei, bei größeren Fröschen gegebenenfalls auch in drei Teile von meist etwa 25—35 mg Gewicht geteilt wurde. Von diesen Teilen wurde der eine sofort, der

¹⁾ Während somit das frische Rückenmark in seinen verschiedenen Abschnitten keine merkliche Differenz des N-Gehaltes aufweist, ergaben, wie nebenbei erwähnt sein möge, einige Bestimmungen des N-Gehaltes in Alkohol konservierter Präparate in der oberen Rückenmarkshälfte einen deutlich geringeren N-Gehalt als in der unteren, was wohl durch einen ungleichen Gehalt an Wasser oder alkohollöslichen Bestandteilen zu erklären sein dürfte.

andere nach mehr oder minder langem Überleben unter verschiedenen Bedingungen auf seinen N-Gehalt untersucht. Die bloße Aufbewahrung des Rückenmarks in Luft oder in einer Sauerstoffatmosphäre ergab, wie zwei Kontrollversuche zeigten, keine Änderung des N-Gehaltes, sodaß ein Verlust gasförmiger N-haltiger Produkte nicht eintritt. Ganz anders dagegen, wenn die Rückenmarkstücke in physiologischer Kochsalzlösung unter ständiger Durchleitung von Sauerstoff aufbewahrt werden. Hier zeigt sich nach längerem Verweilen in der Lösung regelmäßig eine deutliche Verringerung des N-Gehaltes, die in 12 Versuchen, bei welchen die Rückenmarkstücke durch 24 Stunden bei gewöhnlicher Zimmertemperatur unter den angegebenen Bedingungen gehalten wurden, 0,21—0,29, im Mittel 0,25 % der frischen Substanz oder ca. 20 % des Gesamtstickstoffs betrug.

Einfluß der Gefäßhaut. In den eben erwähnten Versuchen sind drei an piafreien Rückenmarken angestellte mit inbegriffen; bei diesen bewegte sich der auf die Gewichtseinheit bezogene N-Umsatz in den gleichen Grenzen wie bei den von der Pia umhüllten Präparaten, machte jedoch in Anbetracht des, wie oben bemerkt, geringeren N-Gehaltes einen etwas größeren Prozentsatz des letzteren aus. Die Gefäßhaut nimmt also, wie zu erwarten war, an dem N-Umsatz keinen nennenswerten Anteil; sie hat ferner trotz ihrer von Unger¹⁾ erwiesenen semipermeablen Eigenschaften auch keinen merklichen Einfluß auf das Herausdiffundieren der N-haltigen Stoffwechselprodukte, da sonst ihre Anwesenheit eine deutliche Wirkung auf die Größe des N-Verlustes ausüben müßte.

Zeitlicher Verlauf des N-Umsatzes. Innerhalb der ersten 24 Stunden verläuft der Umsatz der N-haltigen Substanzen anscheinend ziemlich gleichmäßig, wie die beiden folgenden Versuche zeigen: In dem einen wurde von dem in drei Teile zerlegten Rückenmark $\frac{1}{3}$ sofort, $\frac{1}{3}$ nach 8, und das letzte

¹⁾ R. Unger, Untersuchungen über den Einfluß von anorganischen Lösungen etc. Biochem. Zeitschr., Bd. 61, S. 103 (1914), — Über physikalisch-chemische Eigenschaften des Froschrückenmarks etc. Ebenda, Bd. 80, S. 364 (1917).

nach weiteren 16 Stunden untersucht; der N-Verlust betrug in den ersten 8 Stunden 0,10, in den folgenden 16 Stunden 0,19 % der frischen Substanz. In analoger Weise betrug in einem zweiten Versuche die Differenz zwischen dem N-Gehalt einer nach 16 Stunden und einer nach weiteren 8 Stunden untersuchten Rückenmarkshälfte 0,08 %, mithin wieder etwa $\frac{1}{3}$ des sonst innerhalb 24 Stunden zu beobachtenden N-Verlustes. Dagegen ist bei gewöhnlicher Temperatur am zweiten Tage der N-Umsatz nurmehr ganz minimal, sodaß die nach 48 Stunden gewonnenen Werte durchaus in die Grenzen der nach 24 Stunden beobachteten hineinfallen. So betrug der N-Verlust nach 48 Stunden in einem Versuche 0,28, in einem zweiten 0,24, in einem dritten 0,27 % der frischen Substanz. In einem vierten Versuche betrug der an dem gleichen in drei Teile zerlegten Rückenmark untersuchte N-Umsatz nach den ersten 24 Stunden 0,21 %, und nach weiteren 24 Stunden 0,04 %, fiel somit auch hier bereits in die Fehlergrenzen der Methodik.

Einfluß der Temperatur. Anders verhält es sich, wenn die Geschwindigkeit des Umsatzes durch Abkühlung eine Verminderung erfährt. Dann sinkt der N-Umsatz des ersten und steigt derjenige des zweiten Versuchstages, wie der folgende Versuch zeigt, bei welchem das bei 10—12° gehaltene Rückenmark nach den ersten 24 Stunden einen N-Verlust von 0,17 % und nach weiteren 24 Stunden einen solchen von 0,11 % aufwies. Während so die relativ geringfügige Herabsetzung der Außentemperatur von meist 15—18° auf 10—12° eine sehr deutliche Verlangsamung des N-Umsatzes herbeiführte, hatte die in einem Versuche vorgenommene Erhöhung der Temperatur auf 21° keine deutliche Änderung zur Folge, da der N-Verlust innerhalb 24 Stunden nur den normalen Wert von 0,26 % der frischen Substanz zeigte. Der Einfluß der Temperatur auf den Reizstoffwechsel soll später noch Erwähnung finden.

Einfluß der Zusammensetzung der Lösung. Aus den Versuchen über den Zuckerstoffwechsel des Froschrückenmarks hatte sich ergeben (a. a. O. S. 194), daß Calcium schon in geringer Menge (0,1 % CaCl_2) eine sehr starke Verminde-

rung des Zuckerverbrauches herbeiführt. Um so überraschender war das Ergebnis, daß der gleiche Calciumzusatz eine bedeutende Steigerung des N-Umsatzes veranlaßt, wie die beiden folgenden Versuche zeigen; in dem einen betrug der N-Verlust innerhalb 24 Stunden 0,37% der frischen Substanz oder 29% des N-Gehaltes, also um etwa 50% mehr als unter gewöhnlichen Bedingungen; in dem zweiten Versuche wurde an demselben in drei Teile geteilten Rückenmark der N-Umsatz in gewöhnlicher 0,7%iger NaCl-Lösung mit demjenigen bei Zusatz von 0,1% CaCl_2 verglichen; es ergab sich (innerhalb 24 Stunden) für das in der ersteren liegende Stück ein N-Verlust von 0,22, in der zweiten Lösung ein solcher von 0,34% der frischen Substanz oder ein Mehrumsatz von 55%. Eine Erklärung dieser eigenartigen Calciumwirkung konnte um so weniger gegeben werden, als, wie wir noch sehen werden, der N-Umsatz in engster Abhängigkeit von der Sauerstoffzufuhr steht, der Sauerstoffverbrauch aber nach den Untersuchungen Ungers (a. a. O.) bei der verwendeten Calciumkonzentration eine ansehnliche Verminderung aufweist.

Im Gegensatz zum Calcium bewirkt Kalium eine beträchtliche Herabsetzung des N-Umsatzes, wie ein Versuch zeigt, in welchem der an Teilen des gleichen Rückenmarks untersuchte N-Verlust innerhalb 24 Stunden in der gewöhnlichen NaCl-Lösung 0,25%, bei Zusatz von 0,1% KCl dagegen bloß 0,17% der frischen Substanz betrug, was einer Verminderung des N-Umsatzes um 47% entspricht.

Zusatz von Traubenzucker oder Milchezucker in einer Konzentration von 0,5% ließ weder an dem von der Pia umhüllten Rückenmark, noch nach Entfernung der Pia einen Einfluß auf den N-Umsatz erkennen.

Einfluß der Narkose. Zur Feststellung der Beziehungen zwischen N-Umsatz und Lebenstätigkeit wurde ebenso wie beim Zuckerstoffwechsel der Einfluß lähmender und erregender Faktoren untersucht, nämlich die Wirkung der Narkose und jene der elektrischen Reizung. Der Zusatz von 4 vol.-%igem Äthylalkohol zur physiologischen NaCl-Lösung drückte den N-Verlust bis hart an die Fehlergrenze herunter,

in einem Versuch (Rückenmark mit Pia) auf 0,08‰, in einem zweiten und dritten (ohne Pia) auf 0,04 bzw. 0,06‰ der frischen Substanz in 24 Stunden. In diesem letzten Versuch wurde der N-Umsatz auch noch am zweiten Tage untersucht, nachdem das Rückenmark in alkoholfreie Lösung zurückgebracht worden war, doch trat keine Erholung mehr ein und der N-Verlust blieb an der Fehlergrenze (0,05‰).

Einfluß elektrischer Reizung. Überzeugender noch als die auch auf leblose Substrate sich erstreckende Wirkung der Narkotica lehrt ebenso wie beim Zuckerstoffwechsel die Wirkung der elektrischen Reizung den engen Zusammenhang zwischen N-Umsatz und Lebensvorgängen.

Die ersten Versuche wurden in der Weise angestellt, daß zu Beginn der 24stündigen Versuchszeit eine 10stündige Reizperiode eingeschaltet wurde, in welcher ein Rückenmarkstück in seiner Lösung durch rhythmische tetanisierende Folgen von Induktionsschlägen gereizt wurde, während ein Kontrollstück desselben Präparats unter den gleichen Bedingungen ohne Reizung verblieb. Der N-Verlust des gereizten Stückes betrug in einem Versuch 0,43‰ der frischen Substanz gegenüber 0,24‰ beim ungereizten, in einem zweiten 0,41‰ gegenüber 0,25‰, d. i. eine Steigerung des N-Umsatzes um 79‰ im ersten, um 64‰ im zweiten Falle. Die Einschaltung einer 8stündigen Reizperiode erhöhte in einem dritten Versuch (bei welchem die Reizung zum Schluß nicht ganz zuverlässig war) den N-Umsatz auf 0,37‰, was unter Zugrundelegung des normalen Wertes eine Steigerung um etwa 50‰ bedeutet. Um festzustellen, ob die Reizung auch noch am zweiten Tage, an welchem, wie oben erwähnt, ein N-Verlust unter gewöhnlichen Bedingungen nicht mehr sicher nachweisbar ist, eine Steigerung des N-Umsatzes herbeizuführen vermag, wurde in einem Versuch eine Rückenmarkshälfte nach 48stündigem Aufenthalt in O-haltiger NaCl-Lösung ungereizt untersucht, während die andere Hälfte unter sonst gleichen Bedingungen am zweiten Tage durch 8½ Stunden gereizt wurde; es ergab sich ein um 0,09‰ (der frischen Substanz) höherer N-Umsatz im letzteren Falle, was in Anbetracht des Umstandes, daß der normale N-Verlust

am zweiten Tage unter 0,05 % liegt, einer Steigerung um mindestens 100 % entspricht.

Um nun zu einer direkten Vergleichung der Größe des Reizumsatzes mit jener des Ruheumsatzes zu gelangen, wurden vier weitere Versuche in der Weise angestellt, daß von dem in drei Teile zerlegten Rückenmark ein Drittel sofort, ein Drittel nach 14—15stündigem Ruhestoffwechsel und das letzte Drittel nach weiterer 8—9stündiger Reizung untersucht wurde. Da, wie oben ausgeführt, der N-Umsatz sich innerhalb der ersten 24 Stunden annähernd konstant verhält, jedenfalls durch die Versuchsdauer an sich nur eine Verminderung erfahren kann, so mußte die Steigerung, die während der an den Ruheversuch sich anschließenden Reizperiode zu beobachten war, mit Sicherheit auf den Erregungsvorgang zu beziehen sein. Das Ergebnis dieser Versuche ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Versuchstemp. °C.	N-Gehalt in % der frischen Substanz zu Beginn des Versuchs	Dauer der Ruheperiode	N-Gehalt in % des Anfangsgewichts am Ende d. Ruheperiode	N-Umsatz in der Ruhe pro 1 g u. 24 Std. in mg	Dauer der Reizperiode	N-Gehalt in % des Anfangsgewichts am Ende der Reizperiode	N-Umsatz während der Reizung pro 1 g u. 24 Std. in mg	Größe d. Reizstoffwechsels in % des Ruhestoffwechsels
13	1,29	14	1,14	2,6	8	0,92	6,6	254
13—14	1,29	14½	1,13	2,7	8	0,90	6,9	256
16½—18	1,30	14½	1,15	2,5	8	0,86	8,7	348
16—17	1,30	15½	1,16	2,2	9	0,85	8,3	377

Diese Zusammenstellung zeigt, daß die elektrische Reizung eine (anscheinend hochgradig von der Temperatur abhängige) außerordentliche Steigerung des N-Umsatzes herbeiführt, der bei 13—14° das 2½fache, bei 16—18° sogar das 3½fache des Ruhewertes zu erreichen vermag, eine Steigerung, die noch weit über jene hinausgeht, die Sauerstoffverbrauch und Zuckerverbrauch unter dem Einfluß der Erregung aufweisen.

Einfluß der Sauerstoffzufuhr. Eine letzte Versuchsreihe schließlich hatte die Abhängigkeit des N-Umsatzes von

der O-Zufuhr zum Gegenstand. Es zeigte sich, daß auch diese Abhängigkeit eine viel weitergehende war als beim Zuckerverbrauch: Ein Rückenmarkstück, das 24 Stunden in einer mit Sauerstoff geschüttelten NaCl-Lösung, aber ohne die sonst stets dauernd vorgenommene O-Durchleitung verweilt hatte, zeigte einen N-Verlust von nur 0,18%, also beträchtlich weniger als in der Norm, und in einem zweiten gleichartigen, aber mit starker Temperaturherabsetzung verbundenen Versuche erfuhr das durch fast 52 Stunden bei 6° gehaltene Rückenmark einen N-Verlust von nur 0,08%. Noch niedriger war der N-Umsatz, wenn die NaCl-Lösung vorher ausgekocht worden war; hier betrug er in einem Versuche bei gewöhnlicher Temperatur nur 0,06%, und in einem zweiten Versuche zeigte das Rückenmarkstück nach 24stündigem Aufenthalt in ausgekochter Lösung noch einen N-Gehalt von 1,26%, der also nur wenig geringer sein konnte, als der hier nicht untersuchte N-Gehalt des frischen Präparates. In diesem Versuche wurde die in der gleichen Lösung belassene Hälfte des gleichen Rückenmarks durch weitere 24 Stunden, aber bei ständiger Durchleitung von Sauerstoff gehalten und jetzt noch nachträglich ein N-Verlust von 0,11% erzielt. Um den Einfluß des (bei Fehlen der O-Durchleitung) in der Lösung enthaltenen Sauerstoffs deutlicher hervortreten zu lassen, wurde in einem Versuch der N-Umsatz an zwei Hälften desselben Rückenmarks in NaCl-Lösung untersucht, die ausgekocht, für die eine Hälfte aber nachträglich wieder mit Sauerstoff durchgeschüttelt worden war. Der N-Gehalt nach 24 Stunden betrug bei der in O-armer Lösung gehaltenen Hälfte 1,24% (war also wieder nur wenig geringer als der normale Gehalt des frischen Präparates), bei der zweiten Hälfte 1,11%, so daß der hier beobachtete Mehrverlust an Stickstoff von 0,13% nur auf Kosten des durch das Schütteln in die Lösung gebrachten O-Vorrats eingetreten sein konnte.

Zur Feststellung der Wirkung völliger O-Entziehung und Ausschaltung des Einflusses, den bei Fehlen der Gasdurchleitung der einfache Fortfall der Flüssigkeitsbewegung etwa durch Erschwerung der Diffusion der N-haltigen End-

produkte ausüben konnte, wurden schließlich einige Versuche mit Durchleitung von Wasserstoff angestellt (Stickstoff stand gerade nicht zur Verfügung). Die ersten Versuche führten zu ganz unerwarteten Ergebnissen, indem der N-Umsatz keine Verminderung, einmal sogar aus ganz unaufgeklärten Gründen eine beträchtliche Steigerung aufwies. Es zeigte sich jedoch, daß diese Resultate durch fehlerhafte Methodik, nämlich ungenügenden Ausschluß des Sauerstoffs bedingt waren. Nach Beseitigung der Fehlerquellen durch sorgfältige Reinigung des Wasserstoffs mit Sauerstoff absorbierenden Lösungen, Einbringen der Rückenmarkstücke in NaCl-Lösung, die durch mehrstündiges Durchleiten des reinen Wasserstoffs möglichst O-frei gemacht worden war, und dichten Luftabschluß des Versuchsgefäßes ergab sich als Differenz des N-Gehaltes vor und nach 24stündigem Aufenthalt in einem Versuche 0,03, in einem zweiten 0,02 % der frischen Substanz, also ein gänzlich in die Fehlergrenzen fallender Wert. Mithin fehlt bei völligem Sauerstoffausschluß jeder nachweisbare Stickstoffverlust, der hierdurch als das Resultat von Oxydationsvorgängen charakterisiert erscheint.

Das Ergebnis dieser Versuche war insofern unerwartet, als der Gedanke nahe lag, daß O-Mangel eine Steigerung des Eiweißzerfalles und daher auch des N-Verlustes herbeiführen würde. Wenn auch nach den Untersuchungen von Mansfeld¹⁾ die am Gesamtorganismus bei O-Mangel zu beobachtende Steigerung des Eiweißzerfalls das Resultat komplizierter, an die Anwesenheit der Schilddrüse gebundener intermediärer Stoffwechselvorgänge zu sein scheint, so hätte doch das mit der Erstickung verbundene Absterben des Gewebes an sich eine Vermehrung des Zerfalls N-haltiger Substanzen erwarten lassen. Die Versuche zeigen, daß weder bei der Erstickung, noch bei dem durch längere Versuchsdauer bedingten allmählichen Absterben ein «Zerfall von Gewebssubstanzen» eintritt, zum mindesten kein solcher, der zur Bildung diffusibler N-haltiger Endprodukte führt.

¹⁾ G. Mansfeld, Beiträge zur Physiologie der Schilddrüse. VIII. Mitteilung. Pflügers Arch., Bd. 161, S. 502 (1915).²⁾

Natur der N-haltigen Endprodukte und ihrer Ursprungssubstanzen. Über die Natur der den N-Verlust bedingenden Ausscheidungsprodukte konnten bisher keine sicheren Anhaltspunkte gewonnen werden. Dies erscheint wohl nicht verwunderlich, wenn man bedenkt, daß die absolute Menge des in einem Versuch an die umgebende NaCl-Lösung abgegebenen Stickstoffs im allgemeinen zwischen 5 und 10 Hundertstel Milligramm betrug. Immerhin wurde der Versuch unternommen, die von einer größeren Zahl von Experimenten gesammelte Flüssigkeit zu untersuchen; das Resultat war bisher sehr dürftig. Der zum größten Teil natürlich aus dem Kochsalz der Lösung bestehende trockene Rückstand zeigte, in destilliertem Wasser gelöst, eine leichte Gasentwicklung, gab weder Eiweiß- noch Phosphorsäurereaktion, wohl aber mit BaCl_2 eine deutliche Trübung. Harnstoff oder Harnsäure konnten nicht nachgewiesen werden. Der Verdunstungsrückstand der konzentrierten Lösung ließ unter dem Mikroskop nur Kochsalzkrystalle erkennen.

Ebensowenig wie über die Natur der Ausscheidungsstoffe läßt sich bisher über jene der zersetzten Substanzen etwas Sicheres aussagen. Außer an Eiweiß wäre noch an die verschiedenen Lipide zu denken, die allerdings in Anbetracht ihres geringen N-Gehaltes in beträchtlichem Umfange umgesetzt werden müßten, wenn sie einen größeren Anteil an dem N-Verlust haben sollten. Vielleicht werden neue in Aussicht genommene Versuche hierüber Aufschluß zu geben vermögen.

Zusammenfassung.

Das isolierte Froschrückenmark besitzt einen innerhalb enger Grenzen schwankenden Stickstoffgehalt von im Mittel 1,30% der frischen Substanz für das von der Gefäßhaut umhüllte, und 1,25% für das piafreie Präparat. Dieser N-Gehalt bleibt auch bei längerer Aufbewahrung in Luft oder Sauerstoff unverändert, sodaß eine Ausscheidung von Stickstoff in gasförmigen Produkten nicht stattfindet. Dagegen tritt bei Aufbewahrung in von Sauerstoff durchströmter physiologischer Kochsalzlösung regelmäßig ein Stickstoffverlust ein, der

im Mittel in den ersten 24 Stunden 2,5 mg pro 1 g frischer Substanz oder nahezu 20% des Gesamtstickstoffgehaltes beträgt. Die Gefäßhaut hat auf diesen N-Verlust keinen merklichen Einfluß.

Der Stickstoffumsatz erfolgt im Verlaufe des ersten Tages ziemlich gleichmäßig, am zweiten Tage ist er unter gewöhnlichen Bedingungen nicht mehr mit Sicherheit nachweisbar. Verlangsamung des N-Umsatzes durch Temperaturerniedrigung bewirkt eine Verminderung des N-Verlustes am ersten und ein Ansteigen desselben am zweiten Tag.

Zusatz von Calcium bewirkt im Gegensatze zu der Beeinflussung des Sauerstoff- und des Zuckerverbrauches eine bedeutende Steigerung des N-Umsatzes, Kalium eine Herabsetzung.

Narkose mit 4%igem Alkohol drückt den N-Verlust bis hart an die Fehlergrenze der Methodik herunter.

Elektrische Reizung erzeugt eine gewaltige, stark von der Temperatur abhängige Steigerung des Stickstoffumsatzes, dessen Größe während der Reizperiode mehr als das 3 $\frac{1}{2}$ fache des Ruhewertes erreichen kann.

Sauerstoffmangel vermindert den N-Verlust, völliger O-Ausschluß hebt ihn gänzlich auf. Der Stickstoffverlust beruht mithin auf Oxydationsvorgängen.

Über die Natur der umgesetzten Substanzen und der Ausscheidungsprodukte konnten bisher keine sicheren Anhaltspunkte gewonnen werden.