

Untersuchungen über das Vorhandensein von Arsen in den normalen Geweben vermittelt der biologischen Methode.

Von
Dr. M. Segale.

(Aus dem hygien. Institut der K. Universität in Genua, Direktor Prof. Dr. P. Canalis.)
(Der Redaktion zugegangen am 3. Mai 1904.)

Das von Gautier im Jahre 1899 festgestellte¹⁾ Vorhandensein von Arsen im Organismus ist noch heute Gegenstand lebhafter Erörterungen, besonders nach den negativen Resultaten von Hödlmoser, Cerny und Ziemke.²⁾

Ich habe versucht dieses Metalloid im tierischen Organismus zu suchen, unter Anwendung des außerordentlich empfindlichen Reagens, welches von Gosio³⁾ vorgeschlagen ist, nämlich des *Penicillium brevicaulis*.

Mit Ausnahme von Ziemke hat sich, soviel ich weiß, bisher noch niemand die Aufgabe gestellt, die Reaktion der Arsenikpilze auf die normalen tierischen Gewebe zu studieren; die wenigen diesbezüglichen Angaben in der Literatur beziehen sich auf Kontrolluntersuchungen, welche an gesunden Geweben angestellt sind, gegenüber solchen, in welche Arsenik in verhältnismäßig bedeutender Menge, in Form löslicher Salze

1) Gautier, Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences, Paris, Vol. 129, p. 130, 131.

Derselbe, Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, XXXV.

2) Hödlmoser, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII.

Cerny, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV.

Ziemke, Vierteljahrsschrift f. gerichtl. Med., Bd. XXXII.

3) Gosio, Berichte d. Deutsch. chem. Gesellschaft, 1897.

Hygienische Rundschau, 1897.

Rivista Igiene e sanità pubblica, 1893.

Policlinica, VIII, 1900.

künstlich eingeführt worden war. — Ziemke experimentierte an 4 Schilddrüsen, die er zerschnitten und im Brutschrank getrocknet hatte, und erzielte dabei negative Resultate. Bei diesen Untersuchungen hat er nicht in Betracht gezogen, daß das *Penicillium brevicaulis* nur auf lösliche Stoffe leicht einwirkt, während das Arsen im normalen Organismus wahrscheinlich als Begleiter des Jods auftritt und mit demselben in dem Eiweißmolekül — im Globulin (Ostwald) oder im Nucleoalbumin (Gautier) — enthalten und daher in einem durch das *Penicillium* nicht direkt angreifbaren Zustand ist. Die Anwendung der Autolyse hat es mir ermöglicht, die Frage in glatter Weise zu lösen, ohne Verunreinigungen durch komplizierte chemische Zerstörungsprozesse der organischen Stoffe befürchten zu müssen. Dies ist um so bedeutungsvoller, da mit der Empfindlichkeit der Untersuchungsmethoden auch die Anforderungen an die Reinheit der Reagentien wachsen müssen.

Ich habe somit zunächst die verschiedenen der Untersuchung zu unterwerfenden Gewebe der Autolyse überlassen, damit die allenfalls darin vorhandenen, sehr geringen Arsenmengen in Lösung übergeführt und dem *Penicillium* zugänglich gemacht werden. — Die fein zerkleinerten Gewebsmassen wurden mit Wasser und einigen Tropfen Chloroform versetzt und im Brutschrank bei einer Temperatur von 37° während einer zwischen 20 und 60 Tagen schwankenden Zeitperiode digeriert.

Die autolysierte Masse füllte ich in Erlenmeyersche Kolben ab, in welchen auf einem Substrat von Kartoffeln oder Brot üppige Kulturen von *Penicillium* gewachsen waren, verschloß die Fläschchen mit Watte und einer Gummikappe und stellte sie in den Brutschrank zurück. Mit dem zur Verdünnung benützten Wasser führte ich Kontrollversuche aus, ebenso mit dem Chloroform, dem Brot oder Kartoffelbrei, und ehe ich die Substanz dem üppig wachsenden *Penicillium* zusetzte, kontrollierte ich, ob nicht etwa die Reaktion in den Kölbchen schon eingetreten wäre, etwa infolge geringer im Brot oder im Wasser enthaltener oder vom Glas aufgelöster Spuren von Arsen.

Unter solchen Versuchsbedingungen erzielte ich in den günstigsten Fällen nach 2—3 Tagen, in anderen Fällen, wenn die Menge des Materials sehr klein oder die vorbereitende Einwirkung eine kurze gewesen war, nach 8—10 Tagen den charakteristischen Geruch. — Immerhin kam es nicht selten vor, daß ich bei der direkten Untersuchung ein negatives Resultat erhielt, und daß erst nach dem Zerdrücken der auf dem Boden liegenden Brotschichte die Reaktion festgestellt werden konnte. Zuweilen mußte ich das Fläschchen auch in den Ofen zurückbringen und ich konnte dann erst nach 24 oder 48 Stunden die Reaktion feststellen.

Bei einigen Experimenten, bei welchen ich die Gewebe schon wenige Tage nach Beginn der Autolyse zu der Penicilliumkultur hinzubachte, wurde die Reaktion bedeutend hinausgeschoben, wahrscheinlich weil sich die autolytischen Vorgänge erst allmählich ausbilden mußten.

Gleichzeitig mit der ersten Serie von Untersuchungen machte ich andere mit frischen Organen und mit solchen, welche ohne Chloroform bei 37° mit Wasser digeriert worden waren. Bei den frischen Organen ließ die Reaktion ganz im Stich oder sie wurde ganz bedeutend verzögert: mehr als einen Monat; bei Abwesenheit des Chloroforms waren die Resultate verschiedene Male positiv, andere Male infolge sekundärer Verunreinigungen zweifelhaft.

Ich habe die Penicilliumreaktion an verschiedenen Tieren, sowohl an ausgewachsenen, als an neugeborenen und an Föten geprüft: an Meerschweinchen, Hunden, Hühnern, Sperlingen und am Menschen. Was den letzteren anbetrifft, so habe ich außer Menstrualblut nur drei Fälle: einen Fötus und zwei Neugeborene untersucht. In allen diesen Fällen konnte ich eine vorhergehende Arsenikkur der Mutter ausschließen.

Zur Untersuchung wurde benutzt: Schilddrüse, Milz, Leber, Nieren, Thymusdrüse, Hoden, Prostata, Speicheldrüsen, Bulbus des Auges, Muskeln, Nebennieren, Placenta, Menstrualblut; in allen diesen Organen erzielte ich unter den obengenannten Grenzen und Versuchsbedingungen positive Resultate bei über 60 Versuchen.

Ich hatte dagegen negative Erfolge in 12 Fällen bei Horngebilden, Federn, Haaren, Klauen, da es mir nicht gelang, bei diesen Geweben während des Zeitraums, über welchen ich die Versuche ausdehnte, eine Autolyse zu erregen.

Nach den Arbeiten von Maassen¹⁾ schien es mir bei dem positiven Ausfall der Reaktion mit dem *Penicillium brevicaulis* notwendig, festzustellen, ob die Reaktion nicht vielleicht durch Selen oder Tellur hervorgerufen sein konnte.

Zunächst habe ich die Untersuchungen Maassens kontrolliert und ich kann sie bestätigen, was das Tellur anbetrifft, obwohl es mir scheint, als ob der beim Tellur auftretende Geruch ein etwas anderer, vielleicht mehr trüffelartiger ist, während beim Arsen ein scharfer Knoblauchgeruch auftritt. Der Unterschied ist jedoch gering. Was das auch als Tetrachlorid untersuchte Selen anbelangt, so fand ich den Geruch dem des Arsens wenig ähnlich, so daß man sie nicht verwechseln kann.

Ich konnte weiter bemerken, daß, wenn man auf einen üppig wachsenden *Penicillium*rasen einige Tropfen der oben erwähnten Salze in verdünnter wässriger Lösung gießt, das Arsen auf dem *Penicillium* eine milchkaffeebraune, das Selen eine hellziegelrote und das Tellur eine schwarzgrüne Färbung hervorruft. Die Reaktion ist nicht auf das Nährsubstrat zurückzuführen.

Ich behalte mir vor, eingehender über die Untersuchungsergebnisse zu berichten, die ich mit einem Schimmelpilz erhalten habe, welcher mit Tellur positiv und mit Arsen negativ reagiert.

Um die Richtigkeit meiner Schlussfolgerungen durch Kontrollversuche zu prüfen, wählte ich die *Oospora jalinula* und den *Mucor stolonifer*. Zu den auf Brei von zerriebenem Brot gezüchteten Reinkulturen dieser Schimmelpilze setzte ich unter Beobachtung der vorhin beschriebenen Versuchstechnik beträchtliche Mengen von autolysierten Geweben hinzu, ohne

¹⁾ Maassen, Kaiserl. Gesundheitsamt, Berlin, Bd. 18.

jemals eine positive Reaktion zu erhalten. Somit bestätigt auch diese von Maassen vorgeschlagene Kontrolle der Gosioschen Methode, daß die positive Reaktion der autolysierten Gewebe wirklich durch die Gegenwart einer sehr geringen Menge von Arsen bedingt war.

Ich füge noch hinzu, daß die Grenzen der Empfindlichkeit der Schimmelpilze und speziell des *Penicillium* dem Tellur gegenüber weit enger sind als dem Arsen gegenüber: wenn die positive Reaktion beim *Penicillium* durch die Gegenwart von Tellur bedingt sein sollte, so müßte dies Element in solchen Mengen im Eiweißmolekül enthalten sein, daß es schwerlich bis heute der chemischen Forschung entgangen wäre.

Im Hinblick auf die Versuche von Biginelli¹⁾ habe ich mit der Flüssigkeit, aus welcher sich infolge der Einwirkung von *Penicillium* auf normale Gewebe Gas entwickelt hatte, verschiedene Versuche angestellt, um in ihnen mit der Marshschen Methode Arsen nachzuweisen, erhielt aber stets ein negatives Resultat, was erklärlich ist, wenn man in Betracht zieht, daß ich nur mit äußerst geringen Arsenmengen arbeitete, während Biginelli verhältnismäßig viel Arsen in der Lösung hatte. Tatsächlich erzielte ich bei einem Kontrollversuch mit 1 mg arsensaurem Natrium negative Resultate, wodurch bestätigt wird, daß die Kontrolle nach der Methode Marsh-Biginelli mißlingen muß, wenn man mit kleinen Organismen experimentiert, in Anbetracht des geringen Bruchteils von Arsenik, der in denselben enthalten sein kann.

Als Resultat meiner Untersuchungen ergibt sich also, daß das *Penicillium brevicaulis* in Gegenwart von normalen autolysierten Geweben positive Arsenreaktion gibt, und diese Reaktion ist nach dem heutigen Stand unserer Kenntnisse zurückzuführen auf Spuren von Arsen, welches in den Parenchymen in einer Form enthalten ist, in der es durch die Hyphomyceten nicht angegriffen wird, solange die es bindende chemische Kette nicht durchbrochen ist.

¹⁾ Biginelli. Acad. Lincei Roma, 1900.

Anm. Diesen meinen im März 1903 beendigten Forschungen¹⁾ folgten verschiedene Veröffentlichungen von Bertrand und Gautier, die die ungeheure Verbreitung des Arseniks im Universum bestätigen.²⁾ Es gereicht mir zur Genugtuung, daß meine Forschungen auf dem engen Gebiet, auf das ich mich beschränkt habe, vollkommen in Übereinstimmung mit denen der bedeutenden französischen Chemiker stehen.

¹⁾ M. Segale, Ricerche sulla presenza dell' arsenico ecci, Arch. Scienze Mediche Torino, Vol. XXVII.

²⁾ Bertrand, C. R. de l'Acad. d. Sc., Paris, Vol. 132.

Presse Medicale, 1902.

Ann. Pasteur, 1903.

Gautier, C. R. de la Soc. biol., Paris, 1903.