

Über die Wirkung des Arsens auf die roten Blutzellen.

Von

Morizo Onaka (Japan).

(Aus der medizinischen Klinik in Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 22. Dezember 1910.)

Wenn eine Substanz sich leicht in Lipoiden und schwer in Wasser löst, so genügt es im allgemeinen, sie in kleiner Konzentration dem die Zellen umspülenden Medium zuzusetzen, um die Sauerstoffatmung zu beeinflussen.¹⁾ Beispiele sind Phenylurethan und Thymol. Bei näherer Überlegung wirken diese Stoffe gar nicht in kleiner Konzentration, denn dort, wo sie zur Wirkung kommen, in den Zelllipoiden, ist ihre Konzentration viel größer als in der wässerigen Lösung: und sie wird nicht sehr verschieden sein von der Konzentration eines ähnlichen Stoffes mit niedrigem Teilungsverhältnis, der dann in großen Mengen in dem umspülenden Medium vorhanden sein muß, um den gleichen Effekt zu erzielen.

Es gibt aber Substanzen, die sich nicht in dieses Schema einordnen lassen, und zu diesen gehört die seit langem als oxydationshemmendes Gift bekannte Blausäure. Das Teilungsverhältnis $\frac{\text{Öl}}{\text{Wasser}}$ ist für die Blausäure etwa 0,1, ungefähr das des Urethans, trotzdem wirkt schon eine $\frac{1}{20000}$ normale HCN-Lösung hemmend auf die Oxydationen. Derartige Körper haben ein großes Interesse für den Mechanismus der Atmung und ich habe deshalb auf Aufforderung und unter Beihilfe von Herrn Dr. Warburg nach ähnlichen Stoffen gesucht. Ich habe gefunden, daß die arsenige Säure, die einen äußerst kleinen Teilungskoeffizienten zwischen Öl und Wasser

¹⁾ O. Warburg, Diese Zeitschrift, Bd. LXIX, S. 152.

hat, der Blausäure an Wirksamkeit auf die Oxydationen kaum nachsteht. Die Grenzkonzentration ist etwa $1/5000 - 1/7000$ normal, und, wenn man durch Zerstoren der Plasmahaut das Eindringen erleichtert, etwa $1/30000$ normal.¹⁾

Die Versuche, die mit roten Blutzellen angestellt wurden, haben eine auch gewisse speziell-physiologische Bedeutung. Es ist bekannt, daß arsenige Säure ebenso wie Sauerstoffmangel die Regeneration der Erythrocyten im Knochenmark beschleunigt, und so kam man auf die Vermutung,²⁾ daß die arsenige Säure möglicherweise die Oxydationen hemmen könnte. Diese Hypothese erhält durch meine Messungen eine experimentelle Grundlage.

Methode.

Als Material benutzte ich Gänseerythrocyten, teilweise von anämischen Tieren. Die Messungen wurden in der von Warburg angegebenen Weise ausgeführt.³⁾ Die Substanzen wirken nicht ganz gleich auf normale und junge Zellen, und daher kommen teilweise die etwas wechselnden Grenzkonzentrationen, die aus den Tabellen ersichtlich sind. Weder die Blausäure- noch die Arsenhemmung ist vollständig reversibel.

Der Sauerstoffverbrauch ist angegeben als abgelesene Druckverminderung, abzüglich 3 mm für die Absorption der CO_2 (Barcroft'sche Korrektur). 1,8 ccm Blutkörperchensuspension wurden immer zur Bestimmung verwendet.

I.

Junge Säugetiererythrocyten haben nach Warburg⁴⁾ eine größere Sauerstoffatmung als alte. Besonders deutlich zeigte sich dieser Unterschied in Versuchen von Morawitz, der die

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXX.

²⁾ O. Loewi in v. Noordens Pathologie des Stoffwechsels, 2. Aufl., Bd. II. S. 721, und Hans Meyer und Gottlieb, Experimentelle Pharmakologie.

³⁾ loc. cit. Bd. LXIX, S. 452.

⁴⁾ O. Warburg, Zur Biologie der roten Blutzellen. Diese Zeitschrift, Bd. LIX. S. 112.

Oxydationen im Blut¹⁾ bei experimentellen Anämien untersuchte.

Normale kernhaltige Vogelerythrocyten atmen sehr stark im Vergleich zu normalen kernlosen Erythrocyten der Säugtiere. Es hat sich nun gezeigt, daß auch der Stoffwechsel junger Vogelerythrocyten, wie sie bei Blutungsanämien in den Kreislauf kommen, bedeutend gesteigert ist.

Um vergleichbare Werte zu erhalten, wurde von der Suspension, deren Sauerstoffverbrauch bestimmt war, eine N-Bestimmung nach Kjeldahl gemacht, und dann der Sauerstoffverbrauch auf gleiche Stickstoffmengen umgerechnet. Die Blutzellen müssen für diese Messungen in N-freien Flüssigkeiten suspendiert sein.

v ist das Volumen der Schüttellflaschen, von dem für die Ausrechnung das Volumen der eingefüllten Flüssigkeiten (4,8 ccm) abgezogen und das Volumen der Kapillare (1,2 ccm) addiert werden muß.

Aus der folgenden Tabelle sieht man, wie der Sauerstoffverbrauch von 0,035 auf 0,15 ccm pro Stunde und 20 mg N ansteigt, also auf fast das 3fache.

45 Minuten bei 37,5° in Lockescher Lösung.

Datum	Blutentziehungen	N in 1,8 ccm mg	O ₂ -Ver- brauch in 1,8 ccm	O ₂ -Ver- brauch in 1,8 ccm ccm	O ₂ -Verbrauch pro Stunde und 20 mg N ccm
16. IX.	normal	54	v = 36,7 p = — 24 t = 17	0,071	0,035
27. IX.	bis 27. IX. 180 ccm Blut in 6 Entnahmen entzogen	47	v = 39,5 p = — 49 t = 19	0,16	0,094
1. X.	bis 1. X. weitere 170 ccm Blut in 4 Entnahmen entzogen	49	v = 38,3 p = — 89 t = 19	0,28	0,15

¹⁾ Morawitz, Über Oxydationsprozesse im Blut, Schmiedebergs Archiv, Bd. LX, S. 298.

Bei einem anderen Tier¹⁾ stieg die Atmung der Blutzellen infolge der Blutentziehungen auf mehr als das 4fache, innerhalb von 5 Tagen. Dieser Versuch ist in der zweiten Tabelle wiedergegeben.

1¹/₂ Stunden bei 29° in 0,9% NaCl.

Datum	Blutentnahmen	N in 1,8 ccm mg	O ₂ -Bestim- mung in 1,8 ccm	O ₂ -Ver- brauch in 1,8 ccm ccm	O ₂ -Verbrauch pro Stunde und 20 mg N ccm
24. XI.	normal	81	v = 38,8 p = — 23 t = 15	0,074	0,012
25. XI.	am 24. XI. 100 ccm Blut entzogen	76	v = 38,8 p = — 30 t = 15	0,097	0,017
29. XI.	am 25. und 28. XI. je 60 ccm Blut ent- zogen	35	v = 38,8 p = — 47 t = 17	0,15	0,057

II.

Arsenige Säure.

Die Stammlösung der arsenigen Säure wurde durch Kochen von 2 g mit 400 ccm Wasser hergestellt; nach dem Erkalten war filtriert worden: 10 ccm verbrauchten 5,9 ccm ⁿ/₁₀-Jodlösung; sie war also ¹/₇₀ normal oder ca. 0,3% ig. Sie wurde zu den angegebenen Konzentrationen mit 0,9% igem NaCl oder Lockescher Flüssigkeit verdünnt. 2 ccm einer konzentrierten Blutkörperchensuspension wurden mit der Arsenlösung auf 20 ccm verdünnt, zentrifugiert und dies noch 2 mal wiederholt. Wir wissen nicht, ob dadurch schon Gleichgewicht erreicht war.

Die Druckverminderungen sind ein direktes Maß für den Sauerstoffverbrauch und nicht umgerechnet.

¹⁾ Die Blutentziehungen wurden an alten Gänsen vorgenommen.

11/2 Stunden bei 29°.

		Sauerstoffbestimmung in 18 ccm			
1	0,01% As_2O_3	v = 38,8	p = 5	t = 19	
	Kontrolle	v = 38,8	p = 39	t = 19	
2	0,005% As_2O_3	v = 38,3	p = 15	t = 19	
	Kontrolle	v = 38,8	p = 42	t = 19	
3	0,003% As_2O_3	v = 38,8	p = 22	t = 18	
	Kontrolle	v = 39,2	p = 62	t = 18	
4	0,001% As_2O_3	v = 38,8	p = 27	t = 18	
	Kontrolle	v = 38,3	p = 26	t = 18	

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Konzentration, die noch deutlich hemmt, etwa 0,003% ig oder $\frac{1}{7000}$ normal ist.

Anämische Blutzellen scheinen etwas empfindlicher zu sein, also normale.

Die Hemmung durch As_2O_3 ist ebensowenig wie die durch Blausäure bei den Blutzellen vollständig reversibel, aber immerhin steigt die Atmung nach Entfernung der hemmenden Substanz wieder bedeutend an. Dies wurde, wie in einer früheren Arbeit beschrieben,¹⁾ geprüft.

Von organischen Arsenpräparaten haben wir Atoxyl, Arsenophenylglycin und Amidophenylarsenoxyd qualitativ²⁾ geprüft. 0,1% Atoxyl hat keine Wirkung, ebensowenig 0,05% Arsenophenylglycin, dagegen hemmt Amidophenylarsenoxyd in 0,05%iger Lösung stark. Theoretisch hätten Vergleiche nur Interesse, wenn für jedes Präparat bestimmt würde, wieviel in die Zellen eindringt.

¹⁾ loc. cit. Bd. LXIX, S. 452.

²⁾ loc. cit. Bd. LXIX, S. 452.

1½ Stunden bei 29°.

		Sauerstoffbestimmung in 1,8 ccm			
1	erste 1½ Stunden	Locke	v = 38,8	p = - 56	t = 19
		0,005% As ₂ O ₃ — Locke	v = 38,3	p = - 16	t = 19
	zweite 1½ Stunden nach Auswaschen der As ₂ O ₃	Locke	v = 38,8	p = - 53	t = 19
		Locke aus As ₂ O ₃	v = 38,3	p = - 39	t = 19
2	erste 1½ Stunden	Locke	v = 38,8	p = - 31	t = 17
		0,005% As ₂ O ₃ — Locke	v = 38,3	p = - 13	t = 17
	zweite 1½ Stunden nach Auswaschen	Locke	v = 38,8	p = - 27	t = 17
		Locke aus As ₂ O ₃	v = 38,3	p = - 23	t = 17
3	erste 1½ Stunden	Locke	v = 39,2	p = - 63	t = 18
		0,005% As ₂ N ₃ — Locke	v = 38,8	p = - 23	t = 18
	zweite 1½ Stunden nach Auswaschen	Locke	v = 39,2	p = - 57	t = 18
		Locke aus As ₂ O ₃	v = 38,8	p = - 43	t = 18

III.

Blausäure.

Als Stammlösung diente eine etwa 1/100-n-Cyankalilösung, deren Stärke durch Titration mit Silbernitrat kontrolliert wurde. Sie wurde in geeigneter Menge der NaCl- oder Lockeschen Lösung zugesetzt und dann mit HCl neutralisiert, sodaß sich die Flüssigkeiten mit Phenolphthalein noch eine Spur rosa färbten. Die Technik ist dieselbe, wie in Abschnitt II.

1½ Stunden bei 29°.

		Sauerstoffbestimmung in 1,8 ccm		
1	1/1000-n-HCN	v = 37,3	p = 0	t = 18
	Kontrolle	v = 36,5	p = - 36	t = 18
2	1/10000-n-HCN	v = 39,5	p = - 12	t = 18
	Kontrolle	v = 39,2	p = - 62	t = 18
3	1/20000-n-HCN	v = 39,5	p = - 23	t = 18
	Kontrolle	v = 39,2	p = - 62	t = 18

Aus der folgenden Tabelle ergibt sich, wie weit die Hemmung reversibel ist.

1 1/2 Stunden bei 29°.

		Sauerstoffbestimmung in 1,8 ccm		
1	erste 1 1/2 Stunden	Locke 1/20000-n-HCN	v = 39,2 p = -63 t = 18 v = 38,3 p = -37 t = 18	
	zweite 1 1/2 Stunden nach Auswaschen	Locke Locke aus HCN	v = 39,2 p = -57 t = 18 v = 38,3 p = -49 t = 18	
	2	erste 1 1/2 Stunden	Locke 1/10000-n-HCl	v = 39,2 p = -62 t = 18 v = 39,5 p = -12 t = 18
		zweite 1 1/2 Stunden	Locke Locke aus HCN	v = 39,2 p = -57 t = 18 v = 39,5 p = -47 t = 18

IV.

Als Beispiel einer Substanz, die bei großem Teilungskoeffizienten $\frac{\text{Öl}}{\text{Wasser}}$ schon in kleinen Mengen auf die Atmung wirkt, kann das Thymol dienen. Ein anderes Phenol, das Vanillin, ist leichter löslich in Wasser und hemmt demgemäß erst in höherer Konzentration.

1 1/2 Stunden bei 29°.

		Sauerstoffbestimmung in 1,8 ccm	
1. Thy- mol	erste 1 1/2 Stunden	Locke 0,02% Thymol	v = 38,8 p = -33 t = 18 v = 39,2 p = -9 t = 18
	zweite 1 1/2 Std. nach Auswaschen	Locke Locke aus Thymol	v = 38,3 p = -33 t = 18 v = 38,8 p = -34 t = 18
	2. Va- nillin	erste 1 1/2 Stunden	NaCl 0,7% Vanillin
zweite 1 1/2 Std. nach Auswaschen		NaCl NaCl aus Vanillin	v = 38,8 p = -35 t = 16 v = 39,2 p = -37 t = 16

Wie man sieht, sind diese Hemmungen, in Übereinstimmung mit früheren Versuchen, vollständig reversibel.

V.

Weder die arsenige Säure noch die Blausäure verhindern die Abgabe des Sauerstoffs aus dem Hämoglobin unter den Bedingungen unserer Versuche; davon kann man sich leicht überzeugen, wenn man Wasserstoff durch die betreffenden Suspensionen leitet; sie färben sich dann bald tiefdunkel und werden beim Schütteln wieder hellrot.