

# **Über den Einfluß des Arsens auf die Autolyse.<sup>1)</sup>**

## **II. Mitteilung.<sup>2)</sup>**

### **Autolyse und Stoffwechsel.**

Von

**Ernst Laqueur und Jakob Ettinger.**

(Aus den physiologischen Instituten in Königsberg i. Pr. und in Halle a. S.)  
(Der Redaktion zugegangen am 13. April 1912.)

Seit Entdeckung der Autolyse durch Salkowski ist man der Frage nachgegangen, ob die Autolyse auch im Leben eine Rolle spiele, und welcher Art diese Rolle sei. Ohne hier genauer auf die Literatur einzugehen, da sie in den letzten Jahren wiederholt behandelt ist, weise ich auf zwei Wege hin, die zur Lösung der obigen Frage beschritten wurden. Den einen verfolgte im Jahre 1900 zuerst Jacoby:<sup>3)</sup> Er untersuchte die Autolyse der Leber von Tieren, die mit Phosphor vergiftet waren. Hierbei war sein Gedanke, daß, wenn bei der Phosphorvergiftung die vermehrte und veränderte Stickstoffausscheidung während des Lebens durch die vermehrte Tätigkeit des autolytischen Ferments hervorgerufen sei, nach dem Tode sich erstens viel Produkte der Autolyse in der Leber finden müßten,

<sup>1)</sup> Die Versuche zu dieser und den drei folgenden Arbeiten sind größtenteils aus dem Königsberger Physiologischen Institut und liegen mehr als drei und vier Jahre zurück. Der eine von uns hat einen Teil der Resultate nur ganz kurz in den Berichten der Physikalisch-Ökonomischen Gesellschaft in Königsberg i. Pr., Jahrg. 48 (1907) u. 50 (1909) und Zentralbl. f. Physiol., Bd. 22, Nr. 23, wiedergegeben. Zu ihrer endgültigen Publikation bedurfte es noch einiger Ergänzungen, die der eine von uns (Laqueur) aus verschiedenen äußeren Gründen erst bis August vergangenen Jahres im physiologischen Institut in Halle a. S. anstellen konnte.

<sup>2)</sup> Siehe die auf der folgenden Seite sub 1 zitierte Arbeit.

<sup>3)</sup> M. Jacoby, Diese Zeitschrift, Bd. 30, S. 174 (1900).

und zweitens vor allem darin auch ein besonders wirksames Ferment vorhanden sein könnte, die Autolyse also besonders schnell verlaufen würde. Jacobys Vermutung bestätigte sich für die nicht zu akut verlaufende Vergiftung in der Tat. — Den anderen Weg, um die eingangs gestellte Frage nach einer etwaigen Beziehung der Autolyse zum Leben zu beantworten, beschritt der eine von uns<sup>1)</sup> 1905 auf Rat von Herrn Prof. Gottlieb. Laqueur untersuchte die Wirkung von Chininzusätzen zur autolysierenden Leber, von der Vorstellung ausgehend, daß möglicherweise die verringerte Stickstoffausscheidung während des Lebens nach Chiningaben durch eine Verminderung autolyseähnlicher Vorgänge hervorgerufen sei. Chinin müßte danach die postmortale Autolyse hemmen. Es zeigte sich, daß dies in der Tat der Fall ist; und zwar tritt die Hemmung schon bei solchen Dosen ein, bei denen andere fermentative Prozesse garnicht oder sogar in entgegengesetztem Sinne beeinflußt werden. Dieser Weg, die Untersuchung der Autolyse nach Zusätzen differenter Substanzen, ist seither von verschiedenen Seiten weiter verfolgt worden, ich nenne nur Saxl,<sup>2)</sup> Heß,<sup>3)</sup> M. Ascoli<sup>4)</sup> und mehrere seiner Schüler,<sup>5)</sup> und auch wir selbst sind auf ihm in den folgenden Arbeiten fortgegangen.

Je häufiger sich nun ein Parallelismus zwischen der Beeinflussung des intravitalen Stickstoffwechsels und der postmortalen Autolyse feststellen läßt, umsomehr gewinnt die Hypothese an Wahrscheinlichkeit, daß diesem Parallelismus eine gemeinsame Ursache zugrunde liegt, daß also auch während des Lebens, auch in der Norm, das autolytische Ferment etwas zu leisten hat, und zwar mitverantwortlich ist für

---

<sup>1)</sup> E. Laqueur, Arch. f. experim. Pharmakol. u. Pathol., Bd. 55, S. 240 (1906).

<sup>2)</sup> P. Saxl, Hofmeisters Beiträge, Bd. 10 (1907).

<sup>3)</sup> L. Hess und P. Saxl, Zeitschrift f. experim. Pathol. u. Therap., Bd. 5 (1908).

<sup>4)</sup> M. Ascoli und G. Izar, Berl. klin. Wochenschrift, 1907, Nr. 4, und mehrere Arbeiten in der Biochem. Zeitschrift.

<sup>5)</sup> L. Preti, Diese Zeitschrift, Bd. 58, S. 539; Bd. 60, S. 317. — Truffi, Biochem. Zeitschrift, Bd. 23, S. 270.

den mehr oder weniger großen Stickstoffumsatz.<sup>1)</sup> Ohne hier näher in Einzelheiten zu gehen, da wir uns doch nur im Hypothetischen bewegen könnten, wollen wir erwähnen, daß sich unsere Vorstellung über die Rolle der intracellulären, Stickstoffverbindungen angreifenden Fermente im allgemeinen Stoffwechsel gut in den Rahmen der modernen Anschauung einfügt, nach der immer weniger scharf zwischen den Leistungen der Zellen gegenüber dem sogenannten Nahrungseiweiß und gegenüber dem Körpereiwweiß unterschieden wird. Nur einen Punkt wollen wir hier noch ausdrücklich hervorheben. Es scheint uns, wie wohl auch den meisten anderen Autoren, die sich mit der Frage nach der etwaigen intravitalen Rolle der Autolyse während des Lebens beschäftigt haben, durchaus falsch, die gesamten Stoffwechselvorgänge der lebenden Zelle, im besonderen ihre eine Phase, den Abbau, einfach mit den Prozessen bei der postmortalen Autolyse zu identifizieren. Die Frage ist vielmehr nur, ob es sich bei ihr um Prozesse handelt, die im Leben irgendwie vorhanden sind und nach dem Tode, nach «Aufhören jeder Regulation» (Abderhalden), «ein überlebensgroßes Bild» (Conradi) vitaler Vorgänge liefern, oder ob sie überhaupt gar nichts irgendwie mit dem Leben zu tun haben, sondern zu ihm in etwa dem gleichen Verhältnis stehen wie die postmortalen Zersetzungs Vorgänge durch Bakterien.

Nachdem Einwände beseitigt worden sind, die eine Betätigung des autolytischen Fermentes während des Lebens prinzipiell ausschließen wollten, so die angeblich alkalische Reaktion des Blutes, die Antifermente des Serums, kann die im Anfang gestellte Frage zum mindesten als diskutabel erscheinen, und daher auch Arbeiten berechtigt, die Material für eine mögliche Rolle des autolytischen Fermentes während des Lebens beizubringen suchen.

Es muß auch weiterhin gesucht werden, ob sich allgemeinere Bedingungen erkennen lassen, die erklären, warum bei Vorhandensein autolytischer Fermente im Leben der Abbau meist ein so beschränkter ist, warum er andererseits manchmal

---

<sup>1)</sup> Siehe E. Laqueur, Mediz. Klinik, 1910, Nr. 38.

recht groß wird und warum er schließlich nach dem Tode zu dem schlechthin als «Selbstauflösung» bezeichneten Prozeß führt (s. die V. Mittlg.).

Für unsere eingangs gestellte Aufgabe, Material für einen Parallelismus zwischen Wirkung bestimmter Substanzen auf die intravitale Stickstoffausscheidung und auf die postmortale Autolyse heranzuschaffen, ist wohl die Untersuchung solcher Stoffe, welche die N-Ausscheidung vergrößern und zu abnormen Harnbestandteilen führen, also die Autolyse steigern müßten, besonders geeignet. Die Untersuchung des Einflusses solcher Stoffe erscheint besser als die von Substanzen mit entgegengesetzter Wirkung, welche die N-Ausscheidung vermindern, zu einem sogenannten N-Ansatz führen, also die Autolyse hemmen müßten. Wir nehmen dies an, obwohl der eine von uns<sup>1)</sup> gerade selbst bei der Untersuchung der Wirkung des Chinins auf die Autolyse zunächst ein Mittel der zweiten Art gewählt hatte.

Die Stickstoffausscheidung fördernden Mittel sind aber deshalb für unsere Frage geeigneter, weil es schwieriger ist, die Wirkung eines Fermentes durch ein bestimmtes Mittel zu erhöhen, als sie zu hemmen; denn um Hemmung zu erreichen, sind mehr oder weniger alle irgendwie differenten Substanzen bei genügend großen Dosen zu verwerten. Um also die Hemmung des autolytischen Fermentes durch irgend eine Substanz für unsere Frage zu benutzen, bedarf es entweder des Nachweises, daß schon außerordentlich kleine Dosen dies zu tun vermögen, oder es muß die Wirkung einer bestimmten Dose auf die Autolyse mit der auf andere Fermentprozesse verglichen werden, wie es im Falle des Chinineinflusses<sup>1)</sup> geschehen ist.

In den folgenden Arbeiten wurden darum drei Substanzen untersucht, von denen feststeht, daß sie in bestimmten Dosen sicherlich die Stickstoffausscheidung vergrößern.

Zunächst wählten wir Arsen.

Aus der Literatur über die Wirkung des Arsens auf den Stoffwechsel, auf die wir hier nicht näher einzugehen brauchen, da sie erst 1907 von O. Loewi recht vollständig in v. Noordens

---

<sup>1)</sup> E. Laqueur, l. c.



Handbuch<sup>1)</sup> zusammengestellt worden ist, ergibt sich, daß kleine Dosen die Stickstoffausscheidung verringern, große toxische Dosen sie steigern.

Daß kleine Gaben zu einer gewissen Mästung führen, ist noch in den letzten Jahren durch von den Velden<sup>2)</sup> mittels der arsenhaltigen Dürckheimer Maxquelle an Menschen, von Bachem<sup>3)</sup> an Kaninchen gezeigt worden, und in der jüngsten Zeit haben besonders Versuche Lardellis in Cloëttas<sup>4)</sup> Institut erwiesen, daß es sich bei der Mast der mit Arsen gefütterten Tiere wirklich um eine Zellmast in dem Sinne handelt, daß sie N-reicher werden: «auf fettfreie Masse bezogen ist das Arsentier bedeutend N-reicher als das Kontrolltier.»

Ebenso ist die Steigerung der N-Ausscheidung durch größere toxische Dosen sicher. Sie ist sowohl bei hungernden wie bei gefütterten Tieren durch Untersuchungen Gaethgens<sup>5)</sup> und A. Kossels,<sup>6)</sup> die dieser noch als Student in dessen Laboratorium ausgeführt hat, erwiesen. Durch Imjanitoff<sup>7)</sup> sind sie überdies noch bestätigt worden.

Nach dem oben Ausgeführten müßten wir also erwarten, daß ganz kleine Dosen die Autolyse hemmen, größere dagegen sie fördern. Sehr große Dosen werden wahrscheinlich das Ferment hemmen oder töten. Ob sich für diesen Vorgang ein Analogon in intravitalen Prozessen finden läßt, müssen besondere Versuche entscheiden.

### Methode.

In der Mehrzahl der Fälle wurde die Autolyse der Leber und zwar der von Hunden untersucht; in einigen Fällen auch Leber von Katze, Kaninchen, Schwein und Kalb benutzt. In den ersten Versuchen wurde

<sup>1)</sup> v. Noorden, Handbuch der Pathologie des Stoffwechsels, 2. Aufl., Bd. 2, S. 755 (1907).

<sup>2)</sup> R. v. d. Velden, Münch. Mediz. Wochenschrift, Bd. 56, S. 242 (1909).

<sup>3)</sup> C. Bachem, *ibid.*, S. 610.

<sup>4)</sup> M. Cloëtta, Korr.-Blatt f. Schweizer Ärzte, 1811, Nr. 21.

<sup>5)</sup> C. Gaethgens, Zentralblatt f. d. mediz. Wissenschaft, 1876, S. 833.

<sup>6)</sup> A. Kossel, Arch. f. experim. Pharmak. u. Pathol., Bd. 5, 1875, S. 128.

<sup>7)</sup> A. M. Imjanitoff, zitiert nach Malys Jahresber., 1902, S. 751.

die Leber von der Pfortader aus mit warmer physiologischer Kochsalzlösung durchströmt, bis sie blutfrei war, in den späteren Versuchen die Leber unmittelbar mit ihrem Blut benutzt. Das Organ wird fein zerwiegt und dann meistens mit Glaspulver, ungefähr  $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{4}$  des Organgewichts, zu einem möglichst gleichmäßigen Brei zerrührt.

Die ersten Versuche ausgenommen, wurde stets das gesamte Instrumentarium, die Schalen, Glaspulver, die für die Autolysenproben benutzten Flaschen, das Wasser und alle Lösungen sterilisiert, teils bei  $150^{\circ}$  trocken, teils im strömenden Wasserdampfe oder im Autoklaven, teils durch Auskochen. Auch die Öffnung des Tieres und die Herausnahme der Leber geschah unter möglichst aseptischen Kautelen, in den letzten Versuchen stets nach Abbrennen der Haut, was sich als einfachstes Desinfektionsmittel der äußeren Teile bewährte.

Der erhaltene Brei wird entweder direkt in die Flaschen eingewogen oder in tarierte Porzellanschälchen und von da quantitativ hineingespült, dann gleiche Mengen Toluol hinzugesetzt. Um das lästige und langdauernde Abwägen zu vermeiden, wurde versucht, den Leberbrei gleichmäßig aufzuschwemmen und dann durch Abmessen zu verteilen. Die Suspension ist aber doch zu ungleichmäßig und setzt sich zu schnell ab, um genau vergleichbare Proben zu geben. In den einzelnen Flaschen jedes Versuches wird durch Wasser bzw. physiologische Kochsalzlösung und durch Zusatz der verschiedenen Lösungen, deren Einfluß untersucht wird, stets das gleiche Volumen Flüssigkeit hergestellt. Zwei Proben werden sofort aufgekocht, um den in den frischen Organen vorhandenen löslichen Stickstoff kennen zu lernen, die anderen nach stattgefundener Autolyse bei durchschnittlich  $37^{\circ}$ . Vor der weiteren Verarbeitung wurde in allen Fällen die Reaktion jeder einzelnen Probe auf Lackmus bestimmt, und es zeigte sich hierbei, daß die bei frischen Proben neutrale bzw. amphotere Reaktion durch die Autolyse zwar etwas nach der sauren Seite verschoben wird, aber doch nicht so weit, daß nicht auch noch eine gewisse Blaufärbung des roten Lackmus zu erkennen wäre.

In den ersten Versuchen wurde der Inhalt der Flaschen in Emailleschalen gespült, nach Zusatz von 20% Kochsalz bei gerade für Lackmus schwachsaurer Reaktion aufgekocht, in einen 500- bzw. 250 ccm-Meßkolben filtriert, der Rückstand mit kochendem, ganz schwach saurem Wasser ausgewaschen, und dann bis auf das bestimmte Volumen aufgefüllt. In den späteren Versuchen wurde die saure Reaktion nach dem Vorgange von Embden und Knoop mittels  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  hergestellt. Zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl (konzentrierte  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , Zusatz von  $\text{CuSO}_4$  und  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) wurden stets zwei Proben und zwar je  $\frac{1}{2}$  des Filtrates mit der Pipette entnommen und in den meisten Versuchen mit  $\frac{n}{4}$ - $\text{H}_2\text{SO}_4$  und -KOH titriert mit Methylorange oder Kongo als Indikator, in den letzten Versuchen mit  $\frac{n}{10}$ -Lösungen und mit dem ausgezeichneten Methylrot als Indikator. Hierbei war der Umschlag auf einen Tropfen scharf, und die

Übereinstimmung der Analysen meist eine vollkommene oder um 0,03 bis 0,1, sehr selten bis 0,2 ccm abweichend. In den späteren Versuchen wurde nach dem Aufkochen der ganze Inhalt der Schalen, also Rückstand eingeschlossen, quantitativ in einen Meßkolben gespült, nach dem Erkalten aufgefüllt und dann erst filtriert. In einigen Fällen wurde die Methode nach dem Vorgange Ascolis<sup>1)</sup> noch vereinfacht: als Gefäße für die Autolyse wurden Erlenmeyer-Kolben benutzt; beim Einfüllen der Proben wurde möglichst genau auf Einhalten eines bestimmten Volumens geachtet; sofort bezw. nach der Autolyse wurden dann die leicht bedeckten Kolben 5 Minuten im kochenden Wasserbade gehalten, und der Inhalt schließlich direkt filtriert. Diese Methode ist aber natürlich weniger genau, da die Verdunstung beim Kochen nicht gleichmäßig ist. Als wir in allen späteren Versuchen notierten, wieviel Kubikzentimeter Wasser für jede Probe nach dem Kochen gebraucht wurde, um sie auf ein bestimmtes Volumen zu bringen, konnten wir sehen, daß der Fehler bis zu 2% betrug; vor allem ging auch ein etwaiger Irrtum beim ersten Einfüllen der Kolben unbemerkt in die Analysen über.

Fast immer wurden, wie aus den Tabellen hervorgeht, zwei Proben für jede differente Versuchsanordnung benutzt, mehrmals auch drei gleiche Proben ohne Zusatz untersucht, um einen exakteren Mittelwert zu erhalten, welcher der Berechnung der prozentischen Änderung durch die Zusätze zugrunde liegt. Die Größe dieser Änderung übersteigt öfter die Unterschiede zwischen zwei Proben gleicher Art; trotzdem kann aber die berechnete prozentische Änderung wohl nicht als bedeutungslos angesehen werden, wenn sie an verschiedenen Versuchen in gleichem Sinne wiederkehrt. Die erheblichen Fehlergrenzen hier zu betonen, erscheint uns wichtig, weil gerade auf dem Gebiet der Beeinflussung der Autolyse durch äußere Faktoren dies keineswegs immer beachtet worden ist.

Die wesentliche Ursache für die großen Abweichungen zwischen Proben gleicher Art liegt wohl darin, daß einmal die Autolyse in den verschiedenen Teilen des Leberbreies, der selbstverständlich keine homogene Masse darstellt, nicht gleich groß ist. Daneben kommt in Betracht, daß das Antiseptikum ebenso wie die anderen Bestandteile der Flüssigkeit, also gerade die zu prüfenden Agenzien nicht gleichmäßig an jedes Teilchen trotz öfteren Schüttelns herankommt. Ferner spielt eine Rolle, daß eine gewisse Zeit zwischen dem Abwiegen der einzelnen Proben vergeht, manchmal bis zu zwei Stunden zwischen dem der ersten und dem der letzten Probe; dadurch ist einmal der Wassergehalt der Proben nicht ganz gleich, wenn nicht wie bei den späteren Versuchen die Verdunstung besonders vermieden wurde, und dann ist auch die Zeit verschieden, ehe die Proben dem hemmenden Desinficienz ausgesetzt

---

<sup>1)</sup> M. Ascoli und G. Izar, l. c.



werden. Ein weiterer Fehler entsteht durch die Verschiedenheit des Zeitpunktes, an dem die Proben aufgekocht wurden. Indessen ist dieser wie der vorher genannte Fehler zu vermeiden, wenn, wie es bei den späteren Versuchen stets geschehen ist, die Leber während des Abwiegens in Eis gestellt wird, desgleichen die eingefüllten Proben bis zum Einstellen in den Brutschrank und ebenso nach der Herausnahme bis zum Aufkochen. Übrigens ist dieser Fehler auch in unseren Versuchen ohne Verwendung des Eises gering, bezw. aus den Mittelwerten eliminiert, weil stets darauf geachtet wurde, daß die beiden, manchmal drei entsprechenden Kontrollproben nicht hintereinander abgewogen oder aufgekocht wurden, sondern immer erst eine Reihe differenter Proben, dann in gleicher Reihenfolge eine zweite (also in Versuch XLV, S. 26. z. B. erst alle Proben mit ungeraden Nummern außer 19, dann alle mit geraden und schließlich Nr. 19).

Noch eines wichtigen Faktors ist zu gedenken, der Ungenauigkeiten veranlassen kann, das ist die Methode der Enteiweißung durch Aufkochen. Wir haben in der Mehrzahl der Versuche die gelungene bezw. so gut wie vollständige Enteiweißung, insofern man darunter die Entfernung nativen Eiweißes versteht, durch negative Eiweißproben nachgewiesen. Die Biuretprobe ist wegen des Ammoniakgehalts nicht gut verwendbar. Konzentrierte Salpetersäure ergab nach einiger Zeit manchmal Trübungen bezw. sehr wenig Niederschlag. Beide verschwanden oder wurden erheblich geringer beim Kochen und kehrten nach dem Erkalten wieder; es muß sich daher im wesentlichen um «Albumosen» in der bisherigen Nomenklatur gehandelt haben. Mit Eisessig und Ferrocyankalium erhielten wir ebenfalls geringe Niederschläge. Sie waren besonders bei den sofort verarbeiteten Proben (ohne Autolyse) sehr geringfügig; also auch dies spricht dafür, daß es sich wohl weniger um natives Eiweiß als um Albumosen, die bei der Autolyse entstehen, gehandelt hat. In einem Falle bestimmten wir den Stickstoff, der in den durch Ferrocyankalium und Eisessig erhaltenen Niederschlägen vorhanden ist, und zwar bei Proben, die verschieden lang in etwas verschiedenem Milieu autolysiert, und deren Niederschläge äußerlich verschieden groß waren. Da es sich nur um kleine Mengen handelt, so macht ein Analysenfehler von einem Tropfen durch die Umrechnung auf 10 g Leber relativ große Unterschiede. Wie aus der folgenden Tabelle (Versuch VIb) hervorgeht, betrugen hier die äußerlich groß erscheinenden Unterschiede zwischen den einzelnen Proben weniger als 2 mg Stickstoff.

Versuch VIb. Das gesamte Filtrat der einzelnen Leberportionen auf 500 ccm aufgefüllt. In zweimal 200 ccm N bestimmt (Mittel daraus in Spalte 5). Hieraus in Spalte 6 der im ganzen Filtrat von 10 g Leber erhaltene N berechnet. Je 60 ccm des Filtrates mit 2 ccm Eisessig + 3 Tropfen Ferrocyankaliumlösung versetzt; der entstandene Niederschlag nach 24 Stunden abfiltriert und zweimal mit schwach essigsaurer Ferro-



cyankaliumlösung ausgewaschen. Analyse in Spalte 7, daraus berechneter N in Spalte 8.

1	2	3	4	5	6	7	8
Nr.	Brei (mit 20% Glas) in g	Aufent- halt im Brut- schrank in Std.	Zu- sätze	Analysen- mittel in ccm $n/4$ -Lauge für $\frac{2}{3}$ des Filtrats	Lösl. N in mg für 10 g Leber	Analyse des Niederschlags in ccm $n/4$ -Lauge für $\frac{2}{3}$ des Filtrats	N des Nieder- schlags in mg für 10 g Leber
3.	17,95	42		12,90	78,2	0,22	4,45
4.	17,95			12,52	75,9		
13.	17,75	90	1% salicyls. Natrium	15,69	95,3	0,29	5,95
14.	18,10			15,77	95,8		

Ein verschiedener Salzgehalt der Lösungen kann größere Unterschiede bei der Enteiweißung bewirken. Merkwürdigerweise entgeht bei gleicher Behandlung mehr Stickstoff der Koagulation in den Proben, welche mehr Salz enthalten. Da bei den Arsenversuchen innerhalb ein und desselben Versuches größere Unterschiede nicht vorkamen, häufig auch vor dem Aufkochen reichlich Kochsalz zugesetzt wurde, so daß der Unterschied im Gesamtsalzgehalt minimal war, fällt dieser Punkt hier fort. Er spielt aber in den folgenden Mitteilungen eine Rolle. — Bei den dort zu besprechenden Versuchen wurde auch mehrere Male neben den Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl die Titration mit Formol nach Sørensen verwendet. Sie wäre als einzige Methode zur Untersuchung der autolytischen Gesamterscheinungen natürlich ganz unbrauchbar, nebenher verwendet ist sie eine gute Ergänzung der Gesamtstickstoffbestimmung des Filtrates.

Wir versuchten außer dem Aufkochen auch noch die Enteiweißung nach Rona mit kolloidalem Eisenhydroxyd, fanden aber auch bei mehrfacher Variation der Zusätze stets in den Filtraten größere Niederschläge mit Salpetersäure, als sie bei der Hitze-koagulation entstanden; im Fall der Leber scheint uns daher diese Methode hinter der Hitze-koagulation zurückzustehen. Solange eben die Frage gerade die ist, wieviel Stickstoff wird überhaupt bei der Autolyse aus unlöslichen bzw. kolloidal hochmolekularen Körpern in eine lösliche, größtenteils wohl weniger kompliziert gebundene Form übergeführt, solange scheint die Enteiweißung durch Kochen nicht entbehrlich. Freilich ist auf pedantisch gleichmäßige Behandlung der Proben zu achten, was Wasser und Salzzusatz anlangt, Dauer des Kochens, Stärke der An-

säuerung, ob diese vor- oder nach dem Aufkochen stattfindet, u. dergl. mehr! <sup>1)</sup>)

Erstrebenswert ist jedenfalls, die ganze, für unsere zeitweiligen Kenntnisse etwas komplexe Fragestellung in einzelne Unterfragen zu zerlegen und sie dann mit mehreren Methoden zu bearbeiten.

In dieser und in den folgenden Arbeiten wurden mit Ausnahme der ersten Versuche sämtliche Proben bakteriologisch untersucht. Es ergab sich dabei in der Mehrzahl der Fälle Sterilität auch noch 7 Tage nach dem Abimpfen aus den Proben; in einer immerhin beträchtlichen Reihe von Fällen wurden aber auch Bakterien festgestellt. Wichtig ist hier zu betonen, daß dies fast meist nur durch Überimpfen aus der Autolyseprobe in Bouillon geschehen ist. Nur in recht seltenen Fällen (von ca. 700 benutzten Agarröhrchen, vielleicht zwei- oder dreimal) zeigten sich auch nach Ausstrich auf Schräg-Agarröhrchen Kolonien. Meist blieben also diese auch steril, wenn die Bouillonröhrchen durch die Fülle der Bakterien schon 24—48 Stunden nach der Impfung trübe geworden waren. Wenn auch häufiger als die Agarröhrchen, so noch immer relativ selten im Vergleich zu den Impfungen in Bouillon ergaben Stichkulturen in Zuckeragar positive Resultate. Wir stimmen daher durchaus mit Kikkoji<sup>2)</sup> überein, daß ein Überimpfen allein auf Gelatine-röhrchen, wie dies selbst bei der Frage nach der Verwendbarkeit verschiedener Mittel als Desinfizienz bei Autolyseversuchen benutzt worden ist, unzureichend ist. Eine Impfung auf Bouillon darf niemals fehlen; da aber die Befunde von Ösenimpfungen in Bouillon und die von Stichkulturen in Zuckeragar nicht übereinstimmen — können doch obligat anaerobe Bakterien nicht durch die gewöhnliche Bouillon nachgewiesen werden —, so glauben wir, daß auf die Stichkulturen nicht verzichtet werden darf. Am ehesten sind die Ausstriche auf gewöhnlichen Agar zu entbehren, weswegen wir bei den letzten Versuchen nur Bouillon und Zuckeragarröhrchen benutzt haben. Einige Male verwandten wir auch Serumröhrchen für das Impfen, ohne daß sich aber hierbei ein Vorzug vor Bouillon ergab; im Gegenteil Serum lieferte auch mehrere Male negative Resultate, wo Bouillon positive ergeben hatte.

Hier ist auch noch darauf hinzuweisen, daß es nicht genügt, nur nachzusehen, ob sich wirklich Kolonien oder deutliche Trübungen vorfinden: in einigen Fällen ergab die mikroskopische Untersuchung im hängenden Tropfen, oder wenn durch Gewerbspartikelchen hierbei kein endgültiges Urteil zu gewinnen war, das Überimpfen auf andere Röhrchen nach einigen Tagen noch positive Ergebnisse; anderseits stellten sich auch

---

<sup>1)</sup> Siehe hierzu auch die kürzlich erschienene Arbeit von S. P. L. Sørensen und E. Jürgensen, *Biochemische Zeitschrift*, Bd. 31, S. 397 (1911).

<sup>2)</sup> F. Kikkoji, *Diese Zeitschrift*, Bd. 63, S. 109 (1909).

wiederholt Röhrchen, die nach dem Augenschein infiziert schienen, bei dieser nachträglichen Prüfung als steril heraus, weil nur der beim Impfen hineingekommene Detritus Trübungen verursacht hatte.<sup>1)</sup>

Obwohl es nun gerade bei den Autolysearbeiten auf eine sorgfältige bakteriologische Prüfung ankommt, und nur sterile Proben verwertet werden dürfen, so ist doch zu erwähnen, daß häufig Proben, aus denen sich nachweislich später Bakterien entwickelten, ziemliche Übereinstimmung in den Werten für den nichtkoagulablen Stickstoff mit sterilen Proben bzw. manchmal sogar eher eine etwas geringere Bildung von löslichem Stickstoff zeigten. Es ist dies wohl so zu verstehen, daß durch das Desinfizenz während des meist kurz dauernden Autolyseversuches (20—24 Stunden) eine Hemmung der Bakterienentwicklung stattgefunden hat, daß aber doch einige Bakterien bzw. ihre Sporen der Ablötung entgangen sind. Derartigen Versuchen kommt ein gewisser, wenn auch beschränkter Wert zu, sie sind daher in Klammern hinzugefügt. Sobald erhebliche Fäulnis eingetreten war, sind die Unterschiede zwischen Proben gleicher Behandlung außerordentlich groß; dies geht aus besonders ad hoc angestellten Experimenten hervor, in denen das Desinfizenz weggelassen wurde.

Die Resultate der Versuche sind in Tabellen wiedergegeben. In der vierten Spalte ist der Prozentgehalt der Flüssigkeit an arsenigsaurem Natrium bzw. an arseniger Säure angegeben, welchen die Suspensionsflüssigkeit des Leberbreies in der einzelnen Probe hatte. Hierbei ist auf die Verdünnung, welche der prozentische Gehalt durch den Brei und durch das so gut wie unlösliche Toluol erfährt, keine Rücksicht genommen. In der fünften Spalte ist ausgerechnet, wieviel Milligramm As auf je 10 g Leber kommen. Wir haben 10 g als Einheit für alle Rechnungen zugrunde gelegt, weil ungefähr soviel durchschnittlich für die einzelne Probe benutzt wurde. Aus der sechsten Spalte, dem Mittel von 2 Analysen für eine bestimmte Menge des Filtrats in ccm  $\frac{n}{4}$  bzw.  $\frac{n}{10}$ -Lauge, ist die siebente Spalte ausgerechnet: wieviel Milligramm löslicher, d. h. nicht-koagulabler Stickstoff im ganzen Filtrat von 10 g Leber wäre. Als Autolyse ist die Differenz bezeichnet, die zwischen dem Stickstoffgehalt in Milligramm für 10 g Leber der sofort verarbeiteten Proben und dem

<sup>1)</sup> Wir möchten auch an dieser Stelle für das liebenswürdige Entgegenkommen unsern ergebensten Dank aussprechen, mit dem uns die Direktoren der hygienischen Institute von Königsberg und Halle, die Herren Professoren Pfeiffer, Kruse und Fraenkel die Mittel ihrer Institute zu diesen bakteriologischen Untersuchungen zur Verfügung gestellt haben, und desgleichen den Herren Assistenten Prof. Scheller, Privatdozenten Bürgers und Kathe, die uns hierbei wesentlich geholfen haben; besonders sind wir Herrn Dr. Kathe verpflichtet, der stets in der liebenswürdigsten Weise die erwähnten Überimpfungen und mikroskopischen Beobachtungen ausgeführt hat.

der Probe nach stattgehabter Autolyse besteht, und zwar ist fast stets die Differenz aus den Mittelwerten aus zwei gleich behandelten Proben genommen worden. In der letzten Spalte ist die prozentische Änderung zwischen den einzelnen Autolysenwerten angegeben, bezogen auf den Autolysenwert der Probe ohne jeden Zusatz.

Als Beispiel der Umrechnung diene Probe 13 im Versuch LIII, S. 29. Für Spalte 4 «Prozentgehalt an arsenigs. Na»: zugesetzt sind 4 ccm 0,02%  $\text{Na}_2\text{HAsO}_3$  zu 116 ccm Aq, also 0,8 mg auf 120 ccm; die Lösung enthält also 0,00066% an  $\text{Na}_2\text{HAsO}_3$ ; für Spalte 5 «As in mg auf 10 g Leber»: 0,8 mg  $\text{Na}_2\text{HAsO}_3$  enthalten 0,352 mg As, diese sind auf 120 ccm Flüssigkeit und 12,57 g Brei = 10 g Leber, da der Brei 20% Glas enthält, verteilt; auf 10 g Leber kommen also  $\frac{0,352 \cdot 10}{130} = 2,71 \cdot 10^{-2}$  mg As.

Für Spalte 7 «Lösl. N in mg für 10 g Leber»: das Volumen von 12,57 g Brei beträgt, wenn das spezifische Gewicht der Leber = 1, das des Glases = 2,6 gesetzt wird,  $10 + \frac{2,57}{2,6} = 11$  ccm; Flüssigkeit + Substanz sind auf 200 ccm aufgefüllt, also Flüssigkeit darin 189 ccm; für 50 ccm Filtrat sind im Mittel 13,03 ccm  $n_{10}$ -Lauge gefunden, für das ganze Filtrat also  $\frac{13,03}{80} \cdot 189$  ccm und für 10 g Leber  $\frac{13,03 \cdot 189 \cdot 100 \cdot 1,4}{50 \cdot 80 \cdot 12,57} = 68,7$  mg N.

Für Spalte 8 «Autolyse»: aus zwei sofort verarbeiteten Proben (Nr. 23 und 24) hat sich für 10 g frische Leber im Mittel 22,3 mg N ergeben, also ist die durch die Autolyse eingetretene Vermehrung für 10 g Leber  $68,7 - 22,3 = 46,4$  mg N; für Spalte 9 «Änderung in Prozent»: aus zwei ohne Zusatz autolysierten Proben (Nr. 11 u. 12) hat sich im Mittel als Autolyse für 10 g Leber 49,6 mg N ergeben, also ist die durch As-Zusatz bedingte prozentische Änderung  $\frac{46,4 - 49,6}{49,6} \cdot 100 = -6,5\%$ .

## Resultate.

Versuch I. Hund durch Morphinum und Chloroform getötet. Leber von der Pfortader aus blutfrei gespült; auf dem Wiegebrett zerhackt; mit Glaspulver (25% des Lebergewichts) zerrieben. 65 ccm Flüssigkeit (0,9%ige NaCl-Lösung + 0,1- bzw. 1,0- bzw. 10,0%ige arsenigs. Na-Lösung); ferner 10 ccm Toluol. — Dauer der Autolyse 7 Tage bei ca. 35°. Mit  $n_{10}$ -Essigsäure angesäuert, aufgeköcht, mit kochendem, schwach saurem Aq. mehrmals dekantiert und filtriert. Filtrat (excl. Substanz) auf 500 ccm aufgefüllt. Zur Analyse je 200 ccm.



Nr.	Brei in g	Bemer- kungen	Prozent- gehalt an arsenig- saur. Na	As in mg auf 10 g Leber	Ana- lysen- mittel in n/4 ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in %
1.	25,10	} sofort ver- arbeitet sofort auf- gekocht, dann im Brutschrank	—	—	5,42	25,2	—	—
2.	25,05		—	—	4,88	22,7	—	—
3.	25,25		—	—	5,56	25,6	—	—
4.	25,00	—	—	—	31,10	145,0	134,4	109,9
5.	25,15	—	—	—	26,70	123,8		
6.	25,20	—	0,00154	$5,3 \cdot 10^{-2}$	26,30	121,8	97,3	— 11,1
7.	25,00	—	0,0154	$5,3 \cdot 10^{-1}$	26,05	121,5	97,0	— 11,7
[8.	25,05	Beim Auf- kochen etwas verloren	} 0,154	5,3	>24,19	>112,5	>88,0	—
9.	25,30	—			25,24	116,2	91,7	— 16,5
10.	24,90	—	1,54	53	17,09	79,6	55,1	— 50,0

Versuch II. Hündin durch Halsschnitt getötet. Gleiche Behand-  
lung wie Versuch I. — 62 ccm Flüssigkeit excl. 10 ccm Toluol. Dauer  
44 Stunden bei 37°.

Nr.	Brei in g	Bemer- kungen	Prozent- gehalt an arsenig- saur. Na	As in mg auf 10 g Leber	Ana- lysen- mittel in n/4 ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in %
1.	18,2	} sofort ver- arbeitet	—	—	2,99	19,20	18,4	—
2.	18,05		—	—	2,74	17,70		—
3.	18,5	—	—	—	17,17	108,5	90,1	—
[5.	18,0	verdunstet	} 0,00162	$5,8 \cdot 10^{-2}$	—	—	—	—
6.	17,9	—			15,36	100,1	81,7	— 9,3
7.	18,2	—	} 0,162	5,8	8,61	55,3	52,9	34,1
8.	18,1	—			7,84	50,5		
9.	18,0	—	} 1,0 g As <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	100	9,48	61,5	59,4	41,0
10.	18,25	—			8,97	57,4		

Schon aus diesen beiden Versuchen tritt uns deutlich  
eine Hemmung der Autolyse durch Arsen entgegen. Es gilt  
dies sowohl für kleinere, mittlere und große Dosen. Wir sehen  
schon eine Hemmung von etwa 10% durch eine 0,0015 bzw.  
0,0016%ige Lösung von Na<sub>2</sub>HAsO<sub>3</sub>, also durch ca. 0,05 mg

Arsen auf 10 g Leber. Auch die zehn-, hundert- und tausendfach so großen Dosen wirken im gleichen Sinne, wenn auch bei diesen die Hemmung viel stärker ist und bis zu 50 und 60% beträgt.

Diese hemmende Wirkung tritt nicht nur bei Hunden ein, sondern auch bei Katzen und Kaninchen, wie die beiden folgenden Protokolle zeigen.

In den folgenden Versuchen XX und XXXa fällt ein Befund, der nichts mit unserem Thema zu tun hat, auf: der außerordentliche Unterschied in der Größe der absoluten Autolysenwerte. Bei Versuch XX sind nach schon 18 stündiger Dauer etwa 35% des überhaupt vorhandenen koagulablen Stickstoffs in nichtkoagulable Form übergeführt worden.

Versuch XX. Katze unter Chloroform durch Nackenstich getötet. In jedes Glas Stücke aus einem anderen Leberteile, und zwar bedeutet l. linker, r. rechter, m. mittlerer, u. unterer Lappen. Die einzelnen Stücke nur mit der Schere etwas zerkleinert. Kein Glaspulver. 90 ccm Flüssigkeit (0,9%ige NaCl-Lösung + 0,5%ige arsenigs. Na-Lösung), ferner 10 ccm Toluol. Dauer 18 Stunden bei 40°. — Auf 500 ccm (excl. Substanz) unter Zusatz von 2%iger  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - und 20%iger NaCl-Lösung aufgefüllt. Zur Analyse je 200 ccm.

Nr.	Leber in g	Bemer- kungen	Prozent- gehalt an arsenig- saur. Na	As in mg auf 10g Leber	Ana- lysen- mittel- wert in n/4 ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in %
1.	8,89 l.	} sofort ver- arbeitet	—	—	2,55	24,6	24,2	—
2.	9,02 r.		—	—	2,50	23,8		
10.	8,92 r.	—	—	—	14,18	136,4	138,7	114,5
13.	9,84 l.	—	—	—	14,21	124,0		
15.	11,09 m.	—	—	—	20,04	155,7		
9.	8,00 r. u. m.	—	} 0,0275	1,11	8,32	89,5	87,2	63,0
14.	8,00 l. m.	—			7,92	85,0		

Alle Proben steril.

Versuch XXXa. ♂ Kaninchen; verblutet. 25% Glas. 50 ccm mit Chloroform gesättigte 1%ige NaCl-Lösung + 1 ccm 0,5%ige arsenigsaure Na-Lösung; 2 ccm Chloroform, 5 ccm Toluol. Dauer 22 Stunden. — Auf 250 ccm unter Zusatz von 20%iger NaCl- und von 2%iger  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -Lösung (incl. Leberbrei) aufgefüllt. Zur Analyse je 100 ccm.

Nr.	Brei in g	Bemer- kungen	Prozent- gehalt an arsenig- saur. Na	As in mg auf 10 g Leber	Ana- lysen- mittel in n/4 ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in %
7.	10,10	} sofort ver- arbeitet	0,01	0,38	2,74	30,5	} 30,6	—
15.	9,05		—	—	2,47	30,7		
1.	10,13	—	—	—	4,18	46,5	} 45,8	15,3
5.	9,92	—	—	—	3,98	45,2		
3.	10,00	—	} 0,01	0,38	3,94	44,3	} 43,2	12,6
11.	10,00	—			3,74	42,1		

Alle Proben steril.

Der Gesamtstickstoff von 10 g Leber beträgt bei der Katze rund 355 mg. Schryver<sup>1)</sup> findet durchschnittlich 362 mg, wir in einem Versuch 348 mg. Hiervon sind 24 mg in dem frischen Organ in nichtkoagulabler Form vorhanden, also sind in unserem Falle weitere 114,5 von 334 g in Lösung gegangen. Diese starke Autolysezahl, die wir nur noch bei rein aseptischen Versuchen erreicht sehen (s. in der folgenden V. Mitteilung Versuch XXVIII), ist wohl so zu verstehen, daß diese Versuche schon einen Übergang zu aseptischen bilden. Die Leber ist nämlich nicht wie sonst zerkleinert, sondern nur mit der Schere zerschnitten worden, und so dringt das Antiseptikum wenig in die relativ großen Stücke ein, und daher befinden sich die Mehrzahl der Leberteile unter aseptischen, durch kein Desinfizienz gestörten Bedingungen. Im Gegensatz zu dieser hohen Autolyse bei Versuch XX steht die niedrige in Versuch XXXa. Einmal ist hierbei außer dem Toluol noch Chloroform als zweiter schädigender Faktor vorhanden, dann aber handelt es sich um ein Kaninchen, statt um einen Karnivoren, und schon bei den Chininversuchen<sup>2)</sup> ist dem einen von uns der Unterschied zwischen der Größe der Autolyse bei Hund und Kaninchen aufgefallen. Dieselben Erfahrungen machte im Hallenser Institut ein Schüler Lessers, Lindemann,<sup>3)</sup> der

<sup>1)</sup> S. B. Schryver, Biochemical Journ., Bd. 1, S. 123 (1906).

<sup>2)</sup> Laqueur, l. c.

<sup>3)</sup> Lindemann, Zeitschrift f. Biolog., Bd. 55, S. 36 (1911).

zeigte, daß die Autolyse bei Kaninchen auch im einzelnen eine ganz andere ist, z. B. ohne Gasbildung verläuft. Worauf der Unterschied beruht, ist bisher nicht festgestellt. Es wäre interessant, zu untersuchen, ob nicht Reaktionsunterschiede des Gewebes und des Blutes hierbei eine Rolle spielen, da wir wissen, daß diese für die Größe der Autolyse besonders in Betracht kommt; auch ist an besondere Stoffe, die die Autolyse hemmen bzw. fördern und dgl., zu denken. Wir hoffen, dieser Frage nochmals experimentell näher treten zu können.

Kehren wir zu unserem Hauptthema zurück, so ist bei der Hemmungswirkung durch das arsenigsaure Natrium auch daran zu denken, ob nicht die Steigerung der Alkaleszenz durch die Hydrolyse des Salzes dabei mitbeteiligt ist. Sie ist allerdings nicht groß genug, um selbst bei den Proben mit den größten Zusätzen eine deutliche Farbenänderung des Lackmus im Vergleich zu den anderen Proben hervorzurufen, was aber nicht dagegen spricht, daß nicht eine ganze Reihe saurer Gruppen in dem Eiweißbrei abgesättigt sind. Daß aber jedenfalls die Hemmung durch die hydrolytisch entstehende Alkalescenzzunahme nur eine nebensächliche Rolle spielt, und ein spezifischer Einfluß des Arsens vorhanden ist, geht ja aus der Wirkung der Zusätze von arseniger Säure hervor, und dies zeigt auch noch zum Überfluß der folgende Versuch. Wird nämlich zu der mit 10%igem arsenigsauren Natrium versetzten Probe so viel Salzsäure zugegeben, wie die entsprechende Menge reine 10%ige arsenigsaure Natriumlösung zur Neutralisierung auf Lackmus verlangt, ist also jedenfalls keine merkliche Hydrolyse vorhanden, so ist auch die Hemmung noch eine sehr starke (ein arsenigsaures Natrium- und Salzsäuregemisch reagiert dann neutral auf Lackmus, wenn etwas weniger als die Hälfte des vorhandenen Natriums gebunden ist).

Versuch V. Hündin. Gleiche Behandlung wie Versuch I, nur 20% Glaspulver. — Zu Nr. 7 und 8 außer 10 ccm 10%iger  $\text{Na}_2\text{HAsO}_3$  soviel  $\text{HCl}$  hinzugesetzt, wie die gleiche Menge  $\text{Na}_2\text{HAsO}_3$  bei einer vorhergehenden Titration zur Neutralisierung verbraucht hatte. — Dauer 24 Stunden.



Nr.	Brei in g	Bemer- kungen	Prozent- gehalt an arsenig- saur. Na	As in mg auf 10 g Leber	Ana- lysen- mittel in n/4 ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in %
1.	28,1	} sofort ver- arbeitet	—	—	6,25	24,3	} 23,4	—
2.	28,05		—	—	5,82	22,6		—
[3.	28,0	Stopfen abge- gangen, faulig	—	—	25,09	97,9]	—	—
4.	27,9	—	—	—	18,56	72,7	49,3	—
5.	28,1	—	} 0,000016	} $5,15 \cdot 10^{-4}$	19,01	74,0	} 73,0	} 49,6 + 0,6
6.	28,3	—			18,62	72,0		
7.	28,1	} ! + HCl	} 1,72	} 54,5	16,39	63,8	} 62,8	} 39,4 — 20,0
8.	28,4				16,09	61,9		
9.	27,85	—	} 1,61	} 52,2	13,49	53,0	} 55,3	} 31,9 — 35,4
10.	28,0	—			14,79	57,6		

Bei Nr. 1 und 5 nur eine Analyse.

Als Ergebnis unserer bisherigen Versuche konnten wir also eine Hemmung der Autolyse durch Arsen bei verschiedenen Tierarten und großen wie kleinen Dosen angeben. Dies Resultat teilten gleichzeitig mit uns auch Hess und Saxl<sup>1)</sup> mit, die ebenfalls den Einfluß des Arsens auf die Autolyse untersucht hatten. Es hätte sich also nach unseren Versuchen im Falle des Arsens kein Parallelismus zwischen Beeinflussung der Stickstoffausscheidung und der Wirkung auf die Autolyse ergeben. Denn es fehlte völlig die Förderung der Autolyse durch bestimmte Dosen, die wir nach der Wirkung toxischer Gaben auf die Stickstoffzersetzung erwarten mußten. Ja auch, um die Hemmung der Autolyse durch kleine Dosen als ein Analogon für die Verringerung der intravitalen Stickstoffausscheidung zu verwerten, sind wohl die bisherigen Versuche noch nicht ausreichend. Die angewandten Dosen sind bei Hess und Saxl in allen Fällen, bei uns auch noch meist zu groß, um ohne weiteres in Parallele mit den kleinen Gaben gestellt zu werden, die intravital den Stickstoffansatz vermehren. Freilich kennt man die genaue Größe der Dosen, die etwa im Leben das

<sup>1)</sup> L. Hess und P. Saxl, l. c.

Verhalten der einzelnen Organe, also in unserem Falle die Leber beeinflussen, nicht genau. Denn, wie der eine von uns schon in der «Chininarbeit»<sup>1)</sup> betonte, kann man das natürlich nicht durch einfache Division der dem Tiere gereichten Dosis durch das Gesamtkörpergewicht mit Sicherheit erfahren; können doch spezifische Selektionsprozesse eine besondere Anreicherung der betreffenden Substanz in gewissen Organen herbeiführen. Aber man erhält doch durch eine solche Berechnung eine Vorstellung über die Größenordnung der wirksamen Gaben, weiterhin kann man bei der — natürlich übertriebenen — Annahme, daß eine völlige Absorption der Gesamtmenge der gereichten Substanz in einem Organ statthätte, jedenfalls das Maximum der Dosis kennen lernen, das für die Gewichtseinheit dieses Organs in Betracht kommen könnte.

So fand Weiske<sup>2)</sup> bei 2 Hammeln einen deutlichen Stickstoffansatz bei Gaben von 1165 bzw. 565 mg  $\text{As}_2\text{O}_3$ , die über 20 bzw. 16 Tage verteilt wurden (Anfangsdosis 5 mg, Enddosis 180 bzw. 100 mg). Im Durchschnitt war die tägliche Dosis der Hammel, deren mittleres Gewicht 48 bzw. 47,6 kg betrug, 60 bzw. 36 mg  $\text{As}_2\text{O}_3$ , d. i. 45 bzw. 27 mg As. Bei gleichmäßiger Verteilung über die Körpersubstanz kämen auf 10 g Leber pro die  $9,3 \cdot 10^{-3}$  bzw.  $5,7 \cdot 10^{-3}$  mg As (nimmt man eine etwa dreitägige Akkumulierung an, so wären es ca.  $2,8 \cdot 10^{-2}$  bzw.  $1,7 \cdot 10^{-2}$  mg As). Bei völliger Absorption des gereichten As in der Leber, diese zu 2% des Gesamtgewichts gerechnet, würden sich auf 10 g Leber pro die  $4,65 \cdot 10^{-1}$  bzw.  $2,35 \cdot 10^{-1}$  mg As ergeben.

Ähnlich sind die Zahlen in Cloëtta-Lardellis<sup>3)</sup> Versuchen am Kaninchen. 60 mg  $\text{As}_2\text{O}_3$  über vier Monate verteilt — tägliche Durchschnittsdosis also  $3,75 \cdot 10^{-1}$  mg As — brachte deutlichen N-Ansatz hervor. Das mittlere Gewicht der Kaninchen war 900 g. Bei gleichmäßiger Verteilung über die Körpersubstanz kämen auf 10 g Leber pro die  $4,2 \cdot 10^{-3}$  mg As (bei dreitägiger Akkumulierung  $1,26 \cdot 10^{-2}$  mg As). Bei völliger

<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> H. Weiske, Journ. f. Landwirtschaft, 1875, S. 317.

<sup>3)</sup> Cloëtta, l. c.

Absorption des Arsens in der Leber, diese zu 45 g gerechnet, auf 10 g Leber pro die  $8,3 \cdot 10^{-2}$  mg As.

Die bei den Autolyseversuchen verwandten Arsenmengen sind zum Teil erheblich größer. Dies gilt auch von der kleinsten Dosis, die Hess und Saxl<sup>1)</sup> überhaupt angewandt haben. Im vierten ihrer Versuche kommen 3,5 mg  $\text{As}_2\text{O}_3$  auf 20 ccm Flüssigkeit und 5 g Kaninchenleber, also etwa 1,05 mg As auf 10 g Leber, bzw. wenn auch hier das gesamte As durch die Leber absorbiert würde, 5,3 mg auf 10 g Leber. In unseren eigenen Versuchen sind die Dosen zwar viel geringer, aber auch noch größer als die intravital in Betracht kommenden. In Versuch I  $5,36 \cdot 10^{-2}$  für 10 g Leber bei gleichmäßiger Verteilung zwischen Flüssigkeit und Leber,  $2,6 \cdot 10^{-1}$  bei völliger Absorption des As durch die Leber, in Versuch II  $5,8 \cdot 10^{-2}$  bzw.  $3,2 \cdot 10^{-1}$ .

Einige Zeit nach Hess und Saxls und der kurzen Mitteilung des einen von uns veröffentlichte G. Izar<sup>2)</sup> eine Arbeit, wonach bestimmte Dosen von Arsen und zwar bei Anwendung des Arsens in Form verschiedener arsenigsaurer und arsensaurer Salze eine Förderung der Autolyse verursachten, sich also doch der von uns erwartete Parallelismus nachweisen ließ. Izar stellte die Untersuchungen in M. Ascolis Institut an, der in Gemeinschaft mit mehreren Schülern, Truffi, Izar, Preti, in einer ganzen Reihe von Fällen<sup>3)</sup> entsprechend unserer Hypothese einen Parallelismus zwischen intravitaler Stickstoffausscheidung und postmortaler Autolyse bewiesen hat. Izar glaubte die Differenz zwischen den eigenen Ergebnissen und den von Hess und Saxl und den unsern durch die verschieden großen Dosen erklären zu können und meint, wir hätten teils zu große, teils zu kleine Dosen ausschließlich benutzt und gerade die mittleren nicht angewandt. Dies ist ein Irrtum Izars, der dadurch entstanden, daß in der Publikation über den Vortrag des einen von uns nur ein Versuch als Beispiel für mehrere andere angegeben ist. Als zunächst die Versuche mit genau denselben

<sup>1)</sup> L. Hess und P. Saxl, l. c.

<sup>2)</sup> G. Izar, Biochem. Zeitschrift, Bd. 21, S. 46 (1909).

<sup>3)</sup> Siehe Zitate S. 2.

Dosen, wie sie Izar benutzt hatte, wieder angestellt wurden, fanden wir auch nur eine Hemmung, und der eine von uns schrieb darum gelegentlich einer Zusammenfassung derartiger Versuche in der «Medizinischen Klinik»,<sup>1)</sup> daß die Angaben Izars nicht bestätigt werden konnten.<sup>2)</sup>

Es zeigen dies Versuche XXXV, XXXVII, XXXVIII, XL.

Versuch XXXV. Schweineleber; gleiche Behandlung wie im folgenden Versuch XXXVII. — 21,4% Glaspulver. Dauer 70 Stunden. Es wurde unter Zusatz von 25 g NaCl und 10 ccm 2%iger  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  5 Minuten im Wasserbade aufgekocht. — [Durch zu schnelles Aufschließen ist bei der starken Salzmenge eine große Zahl der Analysen verloren gegangen, so beide «sofort aufgekochten» Proben, ferner die Proben ohne Arsen, und alle Kontrollproben mit ungeraden Nummern.] — Die in Klammern beigesetzte Zahl in Spalte 5 gibt die Zahl der Analysen.

#### Gesamtstickstoff:

a) 0,970 g Leber = 8,55 ccm  $\frac{n}{4}$ -Lauge; 10 g Leber also 308,5 mg N  
b) 1,370 „ „ = 10,35 „ „ ; 10 „ „ 269,5 „ „

Mittel: 289 mg N.

Nr.	Brei in g	Prozentgehalt an arseniger Säure	As in mg auf 10 g Leber	Analysen- mittel	Löslicher N für 10 g Leber
(4.	29,99	0,0004	$2,77 \cdot 10^{-2}$	28,72 (3)	113,1
6.	30,20	0,002	$1,38 \cdot 10^{-1}$	28,30 [1]	111,6
8.	30,04	0,004	$2,76 \cdot 10^{-1}$	27,25 [1]	107,3
10.	30,00	0,006	$4,14 \cdot 10^{-1}$	28,33 [3]	111,5
12.	30,00	0,01	$6,90 \cdot 10^{-1}$	25,78 [3]	101,5
14.	30,00	0,02	1,38	24,40 [1]	96,0
16.	30,10	0,04	2,76	20,26 [2]	79,4

Die Proben bis auf 4 steril; im Agarröhrchen von 4 einige Kolonien.

<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> Durch ein Versehen steht an dieser Stelle übrigens statt Izar Preti, worauf mich (Laqueur) Herr Kollege Preti, dem ich hierfür bestens danke, freundlichst aufmerksam gemacht hat.



Versuch XXXVII. Schwein geschlachtet. Leber sofort nach Öffnen des Bauches in Chloroformwasser. Dann mit 20% Glaspulver und 10 ccm Toluol verrieben. In jeden Kolben 250 ccm Flüssigkeit (Aqua + 0,1%ige arseniger Säure) und 10 ccm Toluol. — Dauer 70 Stunden bei 37—38°. Nach Zusatz von 5 ccm 2%iger  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - und 10 ccm 20%iger NaCl-Lösung 5 Min. im Wasserbade aufgekocht; ohne Auffüllen auf bestimmtes Volumen filtriert. Je 50 ccm zur Analyse, außer bei 17 und 18, wo je 100 ccm genommen wurden.

## Gesamtstickstoff:

a) 1,39 g Leber = 12,15 ccm  $\frac{n}{4}$ -Lauge; 10 g Leber also 306,0 mg N

b) 1,15 g „ = 10,04 „ „ ; 10 „ „ „ 304,5 „ „

Mittel: 305,2 mg N.

Nr.	g Brei	Bemerkungen	Prozent- gehalt an arseniger Säure	As in mg auf 10 g Leber	Ana- lysen- mittel in $\frac{n}{4}$ ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in %
17.	30,00	} sofort ver- arbeitet Wasser hereingelaufen	—	—	12,10	46,7	} 45,4	—
18.	29,95		—	—	11,42	44,1		—
1.	29,98		—	—	—	—	—	—
2.	30,05	—	—	—	13,17	101,6	56,2	—
3.	30,02	—	} 0,0004	$2,74 \cdot 10^{-2}$	13,22	101,9	56,7	+ 0,9
[4.	30,08	—			14,13	109,0	63,6]	—
5.	29,95	—	} 0,002	$1,37 \cdot 10^{-1}$	12,06	93,1	} 96,8	51,4 — 8,5
6.	29,98	—			13,01	100,6]		
7.	29,96	—	} 0,004	$2,74 \cdot 10^{-1}$	11,41	88,1	42,7	— 24,0
[8.	29,98	—			13,88	107,1	61,7]	—
9.	29,96	—	} 0,006	$4,11 \cdot 10^{-1}$	11,50	88,9	43,5	— 22,6
[10.	30,02	—			16,74	129,1	83,7]	—
11.	30,01	—	} 0,01	$6,85 \cdot 10^{-1}$	12,19	94,0	} 93,7	48,3 — 14,0
12.	30,00	—			12,10	93,5]		
13.	30,00	—	} 0,02	1,37	11,79	91,0	45,6	— 18,9
(14.)	30,02	—			13,73	106,0	60,6)	—
15.	30,10	—	} 0,04	2,74	11,76	90,6	} 87,2	41,8 — 25,6
16.	30,03	—			10,87	83,8]		

1) Probe 14, deren Werte ganz außerhalb der übrigen liegen, wird besser nicht berücksichtigt.

Die Proben bis auf 4, 8, 10 steril; von diesen sowohl auf Agar wie Zuckeragar (anaerobe) Kulturen.

Versuch XXXVIII. Schweineleber; gleiche Behandlung wie in Versuch XXXVII, nur 16,9% Glaspulver. Dauer 70 Stunden.

Nr.	Brei in g	Bemer- kungen	Prozent- gehalt an arsenig- saurem Na	As in mg auf 10 g Leber	Ana- lysen- mittel in n/4 ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in %
17.	25,03	} sofort ver- arbeitet	—	—	8,75	37,36	} 37,2	—
18.	25,08		—	—	8,70	37,09		—
1.	25,00	—	—	—	15,10	67,0	} 72,9	} 35,7
2.	25,03	—	—	—	17,75	78,7		
3.	25,00	—	} 0,0004	$1,62 \cdot 10^{-2}$	15,11	67,1	} 73,2	} 36,0
4.	25,05	—			17,87	79,2		
5.	24,98	—	} 0,002	$8,10 \cdot 10^{-2}$	15,04	66,9	} 71,2	} 34,0
6.	25,00	—			17,03	75,6		
7.	24,97	—	} 0,004	$1,62 \cdot 10^{-1}$	14,38 <sup>1)</sup>	64,0	} 67,9	} 30,7
8.	24,93	—			16,15	71,9		
9.	25,05	—	} 0,006	$2,43 \cdot 10^{-1}$	14,95	66,3	} 67,5	} 30,3
10.	24,95	—			15,50	68,7		
11.	25,03	—	} 0,01	$4,05 \cdot 10^{-1}$	15,15	67,2	} 67,3	} 30,1
12.	25,08	—			15,25	67,5		
13.	25,10	Volumen vor dem Aufkochen 267 ccm	} 0,04	1,62	14,59	64,5	} 63,3	} 26,1
14.	25,05	statt 264 ccm			13,91	62,2		

<sup>1)</sup> Bei 7 nur eine Analyse.

Alle Proben steril. (Da aber die Temperatur des Brutschranks in der ersten Nacht auf 46° gestiegen, sind die Kulturversuche nicht ganz beweisend.)

Versuch XL. Hund, erschossen. Leber mit 22,5% Glaspulver und 10 ccm Toluol verrieben. Leberbrei während des Abwiegens in Eis. In jeden Kolben 200 ccm Flüssigkeit und 10 ccm Toluol. Dauer 67 Stunden bei 37,5–39,5°. Im übrigen gleiche Behandlung wie in Versuch XXXVII.

Nr.	Brei in g	Bemer- kungen	Prozent- gehalt an arsenig- saurem Na	As in mg auf 10 g Leber	Ana- lysen- mittel in n/4 ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in %
17.	20,90	} sofort ver- arbeitet	—	—	5,25	48,0	—	—
18.	20,17		—	—	5,07	48,0	—	—
1.	19,70	—	—	—	9,76	94,0	} 99,0	51,0
2.	20,00	—	—	—	10,93	104,0		
[3.	20,25	—	} 0,0005	$2,04 \cdot 10^{-2}$	9,30	88,5	40,5]	—
4.	20,00	—			10,11	96,6	48,6	— 4,7
[5.	20,82	—	} 0,0025	$1,02 \cdot 10^{-1}$	10,80	99,1	51,1	—
6.	20,38	—			10,17	95,5	47,5	— 6,8
7.	19,80	—	} 0,005	$2,04 \cdot 10^{-1}$	10,17	98,5	} 97,6	49,6
8.	20,36	—			10,24	96,8		
9.	20,15	—	} 0,01	$4,08 \cdot 10^{-1}$	9,99	95,4	} 97,6	49,6
10.	20,21	—			10,51	99,8		
11.	19,85	—	} 0,025	1,02	9,35	91,0	} 93,8	45,8
12.	20,05	—			10,06	96,6		
13.	20,30	—	} 0,05	2,04	10,05	96,5	} 98,7	50,7
14.	20,49	—			10,73	101,0		
15.	20,12	—	} 0,1	4,08	10,16	99,1	} 99,8	51,8
16.	20,02	—			10,28	100,6		

Die Proben bis auf 3 und 5 steril. Bei 3 Agar und Bouillon, bei 5 Bouillon positiv.

Durch einen Unterschied der Tierart (Izar hatte stets Kalbsleber benutzt) war die Differenz zwischen unseren Ergebnissen kaum zu erklären. Wir wiederholten darum zum dritten Male die Versuche, indem wir die Methode in einem, wie wir geglaubt hatten, ganz unwesentlichen Punkte änderten: die Leber nämlich auch nur fein in der Fleischmaschine zerkleinerten, wie dies Ascolis Schule, auch Izar stets machten, und nicht noch weiter mit Glaspulver zerrieben, wie wir es bis dahin fast immer getan hatten.

Versuch XLIII. Hund durch Halsschnitt verblutet. Leber durch Fleischmaschine. Kein Glaspulver. Leber während des Abwiegens in Eis. In jedem Kolben 150 ccm Flüssigkeit. (Aq. + 0,01% bzw. 0,1% arsenigs. Na.) + 10 ccm Toluol. Dauer 66 Stunden bei ca. 36,5°. Nach Zusatz von 10 ccm 15%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  5 Minuten in kochendes Wasserbad. Außer 17 und 19, die (inkl. Substanz) auf 200 ccm aufgefüllt wurden, ohne Auffüllen auf ein bestimmtes Volumen filtriert. Je 500 ccm zur Analyse.

Nr.	Le- ber in g	Bemer- kungen	Prozent- gehalt an arsenig- saurem Na	As in mg auf 10 g Leber	Ana- lysen- mittel in n/4 ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in ‰
17.	8,23	} sofort ver- arbeitet	—	—	2,20	36,0	33,7	—
19.	8,26		—	—	1,94	31,5		
1.	8,06	—	—	—	7,21	101,6	109,1	75,4
2.	8,25	—	—	—	8,01 <sup>1)</sup>	110,0		
18.	8,24	—	—	—	8,42	115,8		
3.	8,14	—	} 0,00066	$2,78 \cdot 10^{-2}$	7,81	108,8	108,5	74,8
4.	7,95	—			7,57	108,3		
5.	7,99	verloren	} 0,00133	$5,56 \cdot 10^{-2}$	—	—	—	89,1
6.	8,10	—			8,77	122,8		
7.	8,24	—	} 0,0033	$1,39 \cdot 10^{-1}$	8,20	112,8	112,3	78,6
8.	8,02	—			7,91	111,8		
9.	8,15	—	} 0,01	$4,17 \cdot 10^{-1}$	7,25	100,9	102,2	68,5
10.	8,04	—			7,33	103,5		
11.	8,60	verloren	} 0,033	1,39	—	—	—	53,7
12.	8,50	—			6,57	87,4		
13.	8,13	—	} 0,1	4,17	7,24	100,9	100,8	67,1
14.	8,04	—			7,13	100,7		
15.	8,52	—	} 0,33	13,9	6,01	79,6	73,0	39,3
16.	8,11	—			4,76	66,5		

<sup>1)</sup> Nur eine Analyse. Alle Proben steril.



Versuch XLIV. Hund. Gleiche Behandlung wie in Versuch XLIII. Kein Glaspulver. Nur wurde 120 ccm Flüssigkeit (Aq. + 0,1%iges arsenigs. Na) + 10 ccm Toluol zugesetzt. Dauer 18 Stunden bei 38°. Nach dem Kochen vor dem Filtrieren auf 200 ccm (inkl. Substanz) aufgefüllt. Zur Analyse je 50 ccm Filtrat.

Nr.	Leber in g	Bemer- kungen	Prozent- gehalt an arsenig- saurem Na	As in mg auf 10 g Leber	Ana- lysen- mittel in n/4 ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in %
17.	9,93	} sofort ver- arbeitet	—	—	2,86	38,3	} 36,6	—
18.	11,09		—	—	2,94	35,0		
1.	9,97	gesprungen	—	—	—	—	—	—
2.	10,17	—	—	—	5,57	72,8	} 72,9	36,3
19.	10,38	—	—	—	5,71	73,1		
3.	10,15	—	} 0,00066	$2,71 \cdot 10^{-2}$	4,75 <sup>1)</sup>	79,0	} 74,5	37,9 + 4,4
4.	10,27	—			5,42	70,0		
5.	10,10	—	} 0,0013	$5,42 \cdot 10^{-2}$	6,04	79,4	} 82,7	46,1 + 27,0
8.	10,58	—			6,86	86,0		
7.	10,28	—	} 0,0033	$1,35 \cdot 10^{-1}$	6,88	91,1	} 87,9	51,3 + 41,4
6.	10,28	—			6,57	84,8		
9.	10,03	—	} 0,01	$4,05 \cdot 10^{-1}$	5,26	70,0	} 72,8	36,2 — 0,3
10.	10,12	—			5,62	75,6		
11.	10,60	—	} 0,033	1,35	5,45	68,1	} 68,1	31,5 — 13,2
12.	10,11	—			5,17	68,1		
13.	9,97	—	} 0,1	4,06	5,64	74,7	} 73,0	36,4 + 0,3
14.	10,42	—			5,62	71,4		
15.	10,01	—	} 0,33	13,5	4,14	56,3	} 57,2	20,6 — 54,4
16.	9,98	—			4,35	58,2		

<sup>1)</sup> Statt auf 200 ccm ist Nr. 3 auf 251; 7 auf 204,6; 10 auf 204,5; 12 auf 200,5; 15 auf 204,6; 16 auf 200,7 ccm aufgefüllt. — Alle Proben steril.

Diese beiden Versuche zeigen, daß sich dann tatsächlich bei bestimmten Dosen eine Förderung ergibt. Sie ist allerdings viel kleiner als die von Izar beobachtete.

Versuch XLV und XLVI, in denen wieder mit Glaspulver zerrieben wurde, lassen nur Hemmungen der Autolyse erkennen.

Versuch XLV. Hund. Gleiche Behandlung wie in Versuch XLIV, aber mit 28,1% Glaspulver zerrieben. 108 ccm Flüssigkeit + 10 ccm Toluol. Dauer 18 Stunden bei 36—38°.

Nr.	Brei in g	Bemer- kungen	Prozent- gehalt an arsenig- saurem Na	As in mg auf 10 g Leber	Ana- lysen- mittel in n/4 ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in %
17.	12,80	} sofort ver- arbeitet	—	—	3,08	44,3	} 42,5	—
18.	12,67		—	—	2,80	40,8		
1.	12,62	—	—	—	5,65	83,0	} 86,2	43,7
2.	12,46	—	—	—	5,98	88,9		
19.	12,63	—	—	—	5,89	86,6		
3.	12,46	zerbrochen	} 0,000033	$1,35 \cdot 10^{-3}$	—	—	—	—
4.	12,68	—			5,61	82,0	39,5	— 9,6
5.	12,62	—	} 0,000066	$2,7 \cdot 10^{-3}$	5,54	81,0	} 81,7	39,2
6.	12,81	—			5,74	82,5		
7.	12,74	—	} 0,00066	$2,7 \cdot 10^{-2}$	5,58	80,8	} 81,9	39,4
8.	12,56	—			5,65	83,1		
9.	12,45	—	} 0,0013	$5,4 \cdot 10^{-2}$	5,33	79,1	} 82,6	40,1
10.	12,49	—			5,80	86,2		
11.	12,70	—	} 0,0033	$1,35 \cdot 10^{-1}$	5,43	79,0	} 82,6	39,5
12.	12,61	—			5,79	85,0		
13.	12,45	—	} 0,01	$4,05 \cdot 10^{-1}$	5,39	80,1	} 79,3	36,8
14.	12,32	—			5,24	78,6		
15.	12,63	—	} 0,033	1,35	4,72	69,0	} 72,4	29,9
16.	12,61	—			5,16	75,8		

Alle Proben steril.

Versuch XLVI. Hund. Gleiche Behandlung wie Versuch XLV, nur mit 20% Glaspulver. 120 ccm Flüssigkeit + 10 ccm Toluol. Dauer 19 Stunden bei 36–37°. — Die Mehrzahl der Proben (20) dadurch verloren, daß zu kleine Kolben benutzt wurden, die durch den bei der Erwärmung, Gasentstehung u. dergl. m. erzeugten Druck platzten.

Nr.	Brei in g	Bemer- kungen	Prozent- gehalt an arsenig- saurem Na	As in mg auf 10 g Leber	Ana- lysen- mittel in n/4 ccm	Lösl. N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Änderung in %
24.	10,72	sofort ver- arbeitet	—	—	6,70	23,4	—	—
23.	12,63	—	—	—	15,58	54,5	31,1	—
16.	12,41	—	0,0013	$5,4 \cdot 10^{-2}$	13,97	48,9	25,5	— 18,0
20.	12,55	—	0,034	1,35	11,64	40,7	17,3	— 44,5

Es ist übrigens im Versuche XLV schon eine deutliche Hemmung durch noch geringere Dosen, als die meist sonst angewandten, zu erkennen, und es ist damit die oben erwähnte Forderung erfüllt: die Wirkung solcher Dosen auf die Autolyse zu untersuchen, die möglichst den intravital angewandten gleich kommen.

Um wirklich sicher zu gehen, daß die Förderung durch bestimmte Dosen, durch eine gewisse Behandlung (Zerreiben mit Glaspulver) verhindert, bei einer anderen aber deutlich wird, stellten wir noch zwei Versuche an, wobei die verschiedene Behandlung mit Teilen ein und derselben Leber vorgenommen wurde. Der durch Zerkleinern mit der Fleischmaschine entstandene Brei wurde in zwei Portionen geteilt, die eine Portion ohne weitere Manipulation mit den verschiedenen Zusätzen autolytisiert, die andere erst nach Zerreiben mit Glaspulver (s. Vers. XLVII u. LIII).

Versuch XLVII. Hund verblutet. Leber durch Fleischmaschine. Eine Hälfte ohne Glas in Nr. 1—9 und 21, 22 eingewogen; die andere Hälfte erst mit 16,6% Glaspulver verrieben in Kolben 10—19 und 23, 24 eingewogen. 96 ccm Flüssigkeit (Aq. + 0,190 bzw. 0,2% arsenigs. Na.) + 10 ccm Toluol. Dauer 20 Stunden bei 36,5 bis 37,5°. Im übrigen wie Versuch XLIV.

Nr.	Leber in g	Bemer- kungen	Prozent- gehalt an arsenig- saurem Na.	As in mg auf 10 g Leber	Ana- lysen- mittel in n/4 ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in %
21.	8,16	} sofort ver- arbeitet	—	—	1,54	25,3	} 25,8	—
22.	8,28		—	—	1,63	26,4		
1.	8,13	—	—	—	4,38	72,5	46,7	—
[2.	8,00	—	—	—	4,35	73,1]		
3.	8,15	—	} 0,00066	$2,71 \cdot 10^{-2}$	4,32	71,3	} 73,6	47,8
4.	8,05	—			4,55	76,0		
5.	8,03	—	} 0,00133	$5,42 \cdot 10^{-2}$	4,35	72,9	} 74,9	49,1
6.	8,11	—			4,65	77,0		
7.	8,09	—	} 0,0033	$1,35 \cdot 10^{-1}$	4,34	72,2	} 74,8	49,0
8.	8,05	—			4,64	77,5		
9.	8,12	—	0,033	1,35	3,53	58,5	32,7	— 30,0
	Brei in g							
23.	9,61	} sofort ver- arbeitet	—	—	1,65	27,6	} 27,4	—
24.	9,07		—	—	1,53	27,2		
11.	9,99	—	—	—	4,07	65,5	} 64,2	36,8
12.	10,00	—	—	—	3,91	62,9		
[13.	10,05	—	} 0,00066	$2,70 \cdot 10^{-2}$	4,75	76,0	48,6]	—
14.	10,28	—			4,11	64,2	36,8	$\pm 0,0$
15.	10,01	—	} 0,00133	$5,4 \cdot 10^{-2}$	4,06	65,3	} 62,4	35,0
16.	10,05	—			3,72	59,5		
17.	10,02	—	} 0,0033	$1,35 \cdot 10^{-1}$	4,09	65,5	} 60,7	33,3
18.	9,81	—			3,41	55,9		
19.	10,21	—	0,033	1,35	3,67	57,6	30,2	— 17,8

Die Proben bis auf 2 und 13 steril, von 2 war Bouillon trübe, von 13 außerdem auf Agar und Zuckeragar Kolonien.



Versuch LIII. Hund, erschossen. Gleiche Behandlung wie bei Versuch XLVII. Eine Hälfte ohne, die andere mit 20% Glaspulver. 120 ccm Flüssigkeit + 10 ccm Toluol. Dauer 67 Stunden bei 37°. Zur Titration  $n_{10}$ -Lösungen verwandt.

Nr.	Le- ber in g	Bemerkungen	Prozent- gehalt an arsenig- saur. Na	mg As auf 10 g Leber	Ana- lysen- mittel- wert in $n_{10}$ ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in %
21.	9,87	} sofort verarbeitet ohne Zusatz von $\text{KH}_2\text{PO}_4$ aufgekocht	—	—	4,52	24,4	—	—
(22.	9,99		—	—	4,92	27,0	—	—
1.	9,88	—	—	—	14,24	76,7	} 75,3	50,9
2.	10,05	—	—	—	13,99	74,0		
3.	10,12	—	} 0,00066	$2,71 \cdot 10^{-2}$	14,56	76,4	} 77,3	52,9
4.	10,12	—			14,89	78,2		
5.	10,10	—	} 0,00133	$5,42 \cdot 10^{-2}$	14,37	75,5	} 75,0	50,6
6.	10,02	—			14,02	74,5		
7.	9,96	—	} 0,0033	$1,35 \cdot 10^{-1}$	15,05	80,5	} 79,5	55,1
8.	10,07	—			14,89	78,6		
9.	10,00	—	0,033	1,35	13,27	70,5	46,1	— 9,5
	Brei in g							
23.	12,50	} sofort verarbeitet	—	—	4,05	22,1	} 22,3	—
24.	12,75		—	—	4,21	22,5		
11.	12,48	—	—	—	13,38	70,8	} 71,9	49,6
12.	12,54	—	—	—	13,82	73,0		
13.	12,57	—	} 0,00066	$2,71 \cdot 10^{-2}$	13,03	68,7	} 46,4	— 6,5
14.	12,55	geplatzt			—	—		
15.	12,58	—	} 0,00133	$5,42 \cdot 10^{-2}$	13,32	70,1	} 67,3	45,0
16.	12,72	—			12,43	64,6		
(17.	12,51	ohne Zusatz von $\text{KH}_2\text{PO}_4$ aufgekocht	} 0,0033	$1,35 \cdot 10^{-1}$	15,02	79,4	} 57,1	—
18.	12,54	—			13,84	73,0		
19.	12,64	geplatzt	0,33	1,35	—	—	—	—

Alle Proben steril.

Wir sehen hieraus, daß dieselben Arsendosen, welche eine gewisse Förderung der Autolyse des Fleischmaschinenbreies bewirken, Hemmung der Autolyse im Glaspulverbrei be-

dingen; dies gilt sowohl für kurze (eintägige), wie für längere (dreitägige) Autolysen. — Eine völlig befriedigende Erklärung für diesen Unterschied können wir nicht geben. Am wahrscheinlichsten ist, daß bei der Autolyse der nur zerkleinerten Leber mehr aseptische Bedingungen bestehen, das Desinfizienz nicht jedes Teilchen ebenso vollständig erreicht, wie es im Glaspulverbrei der Fall ist. Für diese Auffassung, daß die Störung durch das Desinfizienz im «Fleischmaschinenbrei» geringer ist, spricht auch, daß dann die Autolyse fast in allen Fällen größer als im Glaspulverbrei ist. Unter Berücksichtigung auch der in den folgenden Mitteilungen wiedergegebenen Versuche ergibt sich bei einer Autolyse von  $20\frac{1}{2}$ —22 stündiger Dauer für 10 g Leber durchschnittlich 35,0 mg im Glaspulverbrei (5 Fälle) und 51,4 mg im Fleischmaschinenbrei (6 Fälle).

Die Ursache der Verschiedenheit zwischen den Ergebnissen der Arsenversuche bei «Fleischmaschinen- und Glaspulverbrei» etwa darin zu sehen, daß beim Zerkleinern durch die Fleischmaschine mehr «lebende Elemente» erhalten bleiben als beim Zerreiben mit Glaspulver, ist kaum zugänglich, da man sich von der Lebendigkeit von Zellen in destilliertem Wasser und Toluol wohl keine zu große Vorstellung machen darf.<sup>1)</sup>

An dieser Stelle mag darum auch darauf hingewiesen werden, daß immer bei allen antiseptischen Autolysen daran zu denken ist, daß wir ein geschädigtes Ferment vor uns haben. Der Abbau bei der aseptischen Autolyse ist ein viel schnellerer und auch im einzelnen anderer.

Untersuchen wir also den Einfluß bestimmter Stoffe auf die antiseptische Autolyse, so addiert sich deren eventueller Einfluß stets zu dem des Desinfizienz. Wir können daher keine ganz reinen Resultate erwarten. Uns erscheinen darum für unsere Hauptfrage: Parallelismus von Beeinflussung der Stickstoffausscheidung und von Wirkung auf die Autolyse,

<sup>1)</sup> Anmerkung bei der Korrektur. Herr Dr. S. Loewenthal, Braunschweig, macht uns freundlichst darauf aufmerksam, daß bei der durchschnittlich geringeren Autolyse im Glaspulverbrei auch an eine direkte Giftwirkung des Glases zu denken ist: Alkali, aber auch andere differente Substanzen könnten bei der großen Oberfläche des Glaspulvers leicht abgegeben werden.

wie wir schon oben erwähnten, auch die Resultate wichtiger, welche eine Förderung beider Vorgänge ergeben, als die, welche eine Hemmung zeigen. Trotzdem sind diese im vorliegenden Falle wohl auch von Bedeutung, da, in unsern Versuchen wenigstens, die Dosen mit bereits hemmendem Einfluß außerordentlich niedrig sind und an die Kleinheit der Gaben, die im Tierkörper zum N-Ansatz führen, heranreichen. — Indessen fehlt, um diese Hemmung durch kleinste Dosen ( $0,1-0,3 \cdot 10^{-2}$  mg As für 10 g Leber) mit Recht in Analogie mit den vitalen Vorgängen zu stellen, noch das experimentum crucis, daß bei ein und derselben Versuchsanordnung möglichst an derselben Leber kleinste Konzentrationen hemmen, etwas größere fördern und noch größere wieder hemmen. Hierzu bedarf es, um die nötigen Kontrollen anzustellen, größerer Lebermengen, und wir haben hierzu Schlachttiere benutzt, aber gerade hierbei keine Sterilität erreicht. Wir hoffen, diesen Versuch nochmals gelegentlich nachzuholen. Solange dieser fehlt, ist es möglich, daß die Hemmung nur eine Folge der Behandlung der Leber, z. B. der kombinierten Wirkung des Arsens und des tief eindringenden Desinficienz ist.

Was aber das wichtigere Ergebnis, die von Izar und uns erwiesene Förderung der Autolyse durch gewisse Arsenmengen anlangt, so stimmen sie hinlänglich ihrer Größe gut mit denen überein, durch die Gähtgens<sup>1)</sup> und Kossel<sup>1)</sup> eine vermehrte Stickstoffausscheidung erhielten. In dem Versuche Kossels handelte es sich z. B. um einen 21 kg schweren Hund, bei dem nach 10<sup>d</sup> langer Eingabe von Arsen (durchschnittlich 0,1 g  $A_2O_3$  pro die), Dosen von 0,2 bis 0,25 g von arsenigsaurem Natrium, eine deutliche Vermehrung der N-Ausscheidung eintrat; d. i. durch 88—110 mg, also durch  $4,2-5,2 \cdot 10^{-2}$  mg As auf 10 g Körpersubstanz. Die fördernden Dosen liegen bei Izar zwischen  $0,2-0,7 \cdot 10^{-2}$ , am deutlichsten ist die Förderung bei  $6-8 \cdot 10^{-2}$  mg As auf 10 g Leber; in unsern Versuchen liegt sie bei Dosen zwischen  $2,7-13,5 \cdot 10^{-2}$  mg As.

Endlich scheint auch der Befund, daß noch größere Dosen wiederum Hemmung der Autolyse hervorrufen, ein Analogon zu

<sup>1)</sup> l. c.

intravitalen, freilich erst post mortem konstatierbaren Prozessen zu finden: bei sehr akuten, mit großen Dosen herbeigeführten Vergiftungen scheint ein Verbrauch des löslichen Stickstoffs in den Organen vorzukommen, ohne daß — durch autolytische Vorgänge — entsprechender Ersatz eintrete.

Im Anfang der Arbeit hatten wir erwähnt, daß bisher zwei Wege eingeschlagen worden sind, um die Beziehung der Autolyse zu Vorgängen während des Lebens festzustellen. Den einen haben wir in den bisher besprochenen Versuchen verfolgt — Einfluß des Zusatzes einer Substanz mit bestimmter intravitaler Wirkung auf die Wirkung der Autolyse zu normalen Organen —, der andere Weg ist die Untersuchung frischer Organe von Tieren, die mit solchen Substanzen vergiftet worden sind, auf den Gehalt an löslichem Stickstoff und ferner die Verfolgung der Autolyse dieser Organe.

Wir haben auch mit Arsen zwei solche Versuche angestellt.

Versuch III. 12,5 kg schwerer Schäferhund erhält am 10. Januar 1908, 4 Uhr nachmittags, 1,3 ccm 10,0% arsenigsaures Natrium subcutan injiziert. Hinterher gefressenes Brot wird erbrochen. 9 Uhr abends wird nochmals 1,0 ccm derselben Lösung injiziert. Am nächsten Morgen 6 $\frac{1}{2}$  Uhr wird der Hund tot vorgefunden. Um 8 $\frac{1}{2}$  Uhr wird die Leber mit physiologischer Kochsalzlösung von der Vena cava aus blutfrei gespült. Die inneren Organe fühlen sich noch warm an, obwohl der Hund im Keller gelegen hatte; der Tod war also wohl erst kurz vor 6 $\frac{1}{2}$  Uhr eingetreten.

Die Leber wird in der gleichen Weise wie in Versuch II (S. 13) behandelt. 20% Glaspulver. 60 ccm Flüssigkeit exkl. 10 ccm Toluol.

Nr.	Brei in g	Stunden im Brutschrank	Analysen- mittel in n/4 ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Autolyse
1.	30,6	} sofort verarbeitet	2,59	9,20	} 9,45
2.	29,9		2,67	9,69	
[5.	31,0	} 22	12,97	48,6	} > 39,2]
6.	29,85		14,11	51,2	
7.	30,7	} 49	19,41	70,5	} 72,5
8.	30,3		20,57	74,5	

Bei Nr. 5 ca. 3% Verlust.



Versuch IV. 13,5 kg schwerer Hund erhält am 25. Januar 1908, 12 Uhr mittags, 0,6 ccm 5% arsenigsäures Natrium subcutan; desgleichen am 26. Januar, 7 $\frac{1}{2}$  Uhr, 1,0 ccm und am 27. Januar, 7 $\frac{1}{2}$  vormittags, 1,4 ccm. Der Hund stirbt abends 7 Uhr. Er wird bis zum nächsten Morgen kalt aufbewahrt. Dann wird er in gleicher Weise wie in Versuch III weiter behandelt. Die Mehrzahl der in den Brutschrank gesetzten Proben wird faulig. Ihre Analysen sind nicht aufgeführt.

Nr.	Brei in g	Stunden im Brutschrank	Analysen- mittel in n/4 ccm	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Autolyse
1.	30,00	} sofort verarbeitet	2,80	10,2	} 11,2
2.	30,05		3,10	11,3	
13.	25,20		2,57	11,1	
14.	24,80		2,76	12,2	
4.	24,85	24	9,93	44,6	32,9

Nr. 1 nur 1 Analyse.

In beiden Fällen verlief die Vergiftung schnell; in dem einen trat der Tod innerhalb von 16 Stunden nach der ersten Arsengabe ein. — Die Versuche zeigen einen um 150 und mehr Prozent niedrigeren Gehalt an löslichem Stickstoff, als ihn alle normalen Tiere ergeben haben. Der Durchschnitt aus 41 eigenen Bestimmungen an 41 normalen Hunden ist 30,0 mg für 10 g Leber; die beiden niedersten normalen Werte waren 18,4 und 21,1, während hier nur 9,5 und 11,2 mg N in 10 g Leber gefunden werden. — Die Autolyse ist in dem einen Falle von normaler Größe, in dem anderen geringer, als sich im Durchschnitt ergibt.

Man könnte den Einwand erheben, die große Verschiedenheit im Gehalt an löslichem Stickstoff in diesen beiden Fällen gegenüber allen normalen stamme daher, daß wir gerade hier die Leber beidemale nicht sofort nach dem Tode, sondern erst nach ca. 4—13 stündiger Aufbewahrung der Tiere im Kalten verarbeitet haben. So wenig Berechtigung dieser Einwand von vorneherein zu haben schien, so haben wir ihn doch noch durch einen besonderen Versuch am normalen Tiere mit Sicherheit ausgeschlossen.

Versuch XVII. Hund, 14. I. 1909, 4h 30' getötet; er wird bei ca 2—4° aufbewahrt. Der Körper ist am 15. I. 9h starr. Die Leber und die Muskulatur beider Oberschenkel wird fein gewiegt. — Leber- wie

Muskelbrei in einzelnen Portionen 100 bzw. 200 ccm in 0,9%iger NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Reaktion amphoter. Nach schwachem Ansäuern aufgekocht. Auf 500 ccm aufgefüllt; vom Filtrat je 200 ccm zur Analyse.

Nr.	Leber in g	Analysenmittel in $\frac{n}{4}$ ccm	Löslicher N in mg für 10 g Substanz
1.	35,31	16,30 <sup>1)</sup>	37,6
2.	17,22	7,82 <sup>1)</sup>	38,35
	linke Oberschenkel- muskulatur		
3.	37,65	13,24	28,45 <sup>2)</sup>
4.	37,05	19,34	42,2
	rechte Oberschenkel- muskulatur		
5.	34,82	16,91	39,5
6.	35,22	17,57	40,6

<sup>1)</sup> Probe 1 und 2 nur je eine Analyse.

<sup>2)</sup> Probe 3 ist wohl wegzulassen, da sie nicht nur hier, sondern auch aus den sonstigen Bestimmungen des Gehaltes der Muskeln an löslichem Stickstoff herausfällt (s. Versuche VI—VIII der folg. Mitteilung).

Man erkennt daraus, daß der Gehalt der Leber an löslichem Stickstoff eher etwas größer als in der Norm ist, wohl ein Zeichen, daß eine geringe Autolyse stattgefunden hat, die sich vermutlich abspielte, ehe die inneren Organe abgekühlt waren.

Aus den beiden obigen Vergiftungsversuchen mit Arsen erhält man daher den Eindruck, daß die Dosen so groß waren, daß nach Verbrauch des normalerweise vorhandenen löslichen Stickstoffs das autolytische Ferment bereits vergiftet war, ehe es noch zu einer Reizwirkung kam; zu deren Ausbildung bedarf es einer gewissen Zeit und keiner zu großen sogleich deletären Gaben. — Auch Jacoby<sup>1)</sup> fand bereits, daß eine Vermehrung des mit Magnesia austreibbaren Stickstoffs sowohl in der frischen Leber, wie nach der Autolyse bei der Phosphorvergiftung nur dann eintrat, wenn sie nicht zu stürmisch, verlief, und es zur Ausbildung einer typischen «Phosphorleber» gekommen war. —

Zum Schluß stellen wir kurz in einer Tabelle die Resultate zusammen, die wir durch verschieden große Dosen und bei verschiedener Behandlungsweise der Leber erhalten haben.

<sup>1)</sup> M. Jacoby, Diese Zeitschrift, Bd. 30, S. 174 (1900).

Übersichtstabelle.

Leber zerhackt und mit Glaspulver zerkleinert.

Versuchs- Nr.	Arsen in mg auf 10 g Leber									
	0,1—0,3·10 <sup>-2</sup>	1,5—3,0·10 <sup>-2</sup>	5,0—10,0·10 <sup>-2</sup>	1,3—1,6·10 <sup>-1</sup>	2,0—3,5·10 <sup>-1</sup>	4,0—6,0·10 <sup>-1</sup>	1—4	5—6	50—100	
I.	.	.	— 11,1	.	.	— 11,7	.	— 16,5	— 50,0	
II.	.	.	— 9,3	.	.	.	.	— 61,7	— 54,5	
XXXa.	.	.	.	.	— 17,5	.	.	.	.	
V.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
XXXVII.	.	+ 0,9	.	— 8,5	— 24,0	— 22,6	— 18,9	.	— 35,4	
						— 14,0	— 25,6	.	.	
XXXV.	.	— ?	.	— ?	— ?	— ?	— ?	.	.	
						— ?	— ?	.	.	
XXXVIII.	.	+ 0,8	— 4,8	— 14,0	— 15,1	— 15,7	— 26,9	.	.	
XL.	.	— 4,7	— 6,8	.	— 2,7	— 2,7	— 10,2	.	.	
							— 0,5	.	.	
							+ 1,7	.	.	
XLV.	— 9,6	— 9,8	— 8,2	— 9,6	.	— 15,8	— 31,6	.	.	
	— 10,3							.	.	
XLVI.	.	.	— 18,0	.	.	.	— 44,5	.	.	
XLVII.	.	+ 0,0	— 4,9	— 9,5	.	.	— 17,9	.	.	
LIII.	.	— 6,5	— 9,3	+ 2,2	.	.	.	.	.	
								.	.	
	— 19,9	— 19,3	— 72,4	— 39,4	— 59,3	— 82,5	— 174,4	— 78,2	— 139,9	
	2	6	8	5	4	6	9	2	3	
Durchschnitt	— 9,9	— 3,2	— 9,0	— 7,9	— 14,9	— 13,8	— 19,4	— 39,1	— 46,6	

Änderung in Prozent

## Übersichtstabelle.

Leber nur zerhackt.

Versuchs- Nr.		Arsen in mg auf 10 g Leber					
		$2,7 \cdot 10^{-2}$	$5,5 \cdot 10^{-2}$	$1,4 \cdot 10^{-1}$	$4 \cdot 10^{-1}$	1—4	13
XX.	Änderung in Prozent	.	.	.	.	— 45,0	.
XLIII.		— 0,8	+ 18,2	+ 4,2	— 9,1	— 31,4	— 47,9
						— 11,0	
XLIV.		+ 4,4	+ 27,0	+ 41,4	— 0,3	— 13,2	— 54,3
						+ 0,3	
XLVII.		+ 2,3	+ 5,1	+ 4,9	.	— 30,0	.
LIII.		+ 3,9	— 0,6	+ 8,3	.	— 9,5	.
		+ 9,8	+ 49,7	+ 58,8	— 9,4	— 139,8	— 102,2
		4	4	4	2	7	2
Durchschnitt .		+ 2,4	+ 12,4	+ 14,7	— 4,7	— 20,0	— 51,1

Danach ergibt sich als wesentliches Resultat:

Arsen zeigt der Autolyse gegenüber ein Verhalten, daß sich auf Grund seiner bekannten Beeinflussung des Stoffwechsels durch toxische Gaben voraussagen ließ: in gewissen Dosen und bei bestimmter Zerkleinerung der Leber steigert es deren Autolyse, eine Wirkung, die sich bei anderer Behandlungsweise in das Gegenteil verkehrt. Auf der Unkenntnis von der Bedeutung der Behandlung beruht unsere frühere Angabe, daß Arsen die Autolyse stets hemmt.

Die Höhe dieser fördernden Dosen stimmt hinsichtlich der Größenordnung (um 0,07 mg As pro 10 g Körpersubstanz) gut mit der der intravitalem, zur vermehrten N-Ausscheidung führenden, toxischen Dosen überein.

Auch bei derselben Behandlungsweise der Leber führen etwas größere Dosen (um 0,4 mg As und mehr pro 10 g Körpersubstanz) zur Hemmung der Autolyse. Diese Wirkung beruht vermutlich auf einer Zerstörung des autolytischen Ferments, ähnlich dem Einfluß anderer starken Gifte auf Enzyme. und ihr Analogon zum vitalen Verhalten stellt wohl der Befund dar, daß sehr akut mit Arsen vergiftete Tiere einen auffallend



geringen Gehalt der Leber an löslichem Stickstoff und auch eine etwas kleinere Autolyse als normale Tiere zeigen.

Was die bei der gewöhnlichen Zerkleinerungsmethode (Zerhacken und Zerreiben mit Glaspulver) erhaltene Hemmung der Autolyse durch kleinste Dosen (um 0,002 mg As pro 10 g Leber) anlangt, so muß es noch unentschieden bleiben, ob sie für Prozesse *intra vitam* eine Bedeutung hat.