

ist, ist dies unwahrscheinlich, falls sie aber ein Toalbumin, ein Ferment, ein Ester oder ein Glykosid ist, ist dies sehr wohl möglich. Die bekanntesten Beispiele solcher Glykosidspaltungen sind die des Mandelnitrilglykosids<sup>1)</sup>, Amygdalins, Arbutins, Coniferins, Daphnins und Aesculins durch Emulsin, die des Sinigrins s. myronsauren Kaliums und des Sinalbins durch Myrosin, die des Gaultherins<sup>2)</sup> durch Gaultherase und die des Helicins durch Ptyalin. Ein Beispiel für Esterspaltung ist die des Salols durch das Steapsin des Pankreas. Die Spaltung von Säureamiden studierte M. Gonnermann<sup>3)</sup>.

## BB. Versuche an möglichst einfachen niederen Organismen und an als lebendes Protoplasma abtrennbaren Teilen höherer Organismen.

Gleich das Gebiet der in dies Kapitel gehörigen Versuche ist ein so grosses, dass es nur meine Aufgabe sein kann, auf die verschiedenen Gesichtspunkte hinzuweisen, welche hier in Frage kommen. Auch auf die Technik selbst nur der bakteriologischen Versuche einzugehen, muss ich mir versagen.

### I. Versuche an Spaltpilzen.

Durch die moderne Bakteriologie sind wir in den Stand versetzt, jederzeit lebende Bakterien sehr verschiedener Art reingezüchtet zu bekommen, wobei allerdings nicht ausser acht zu lassen ist, dass sehr viele Arten derselben bei monatelanger Weiterzüchtung von Reinkultur zu Reinkultur ihre physiologischen Eigenschaften verlieren. Die uns hier interessierenden Versuche haben ganz analog dem im vorigen Kapitel Gesagten zu entscheiden, wie wirkt unser Mittel auf die Bakterien? und wie wirken die Bakterien auf unser Mittel?

Die erste Frage anlangend, ist an möglichst verschiedenartigen malignen, nicht malignen, aëroben, anaëroben, säureerzeugenden, kohlenäurezerlegenden<sup>4)</sup>, farbstoffbildenden, enzymbildenden<sup>5)</sup>, schwefelabspaltenden und toxin erzeugenden Spaltpilzen zu operieren. Die Bakterien sind dabei auf den verschiedensten festen und flüssigen Nährböden, die mit dem Mittel imprägniert resp. bestreut sind, zu züchten. Dabei soll sich ergeben:

- a) welche Gruppen von Bakterien von dem Mittel überhaupt in ihrer Vitalität geschädigt und in ihren physiologischen Eigenschaften modifiziert werden;
- b) in welcher Konzentration das Mittel die Vermehrung derselben hemmt, d. h. antigenetisch wirkt;
- c) in welcher Konzentration es die funktionelle Thätigkeit der als geformte Fermente wirkenden Bakterien hemmt, d. h. antibiotisch wirkt;
- d) in welcher Konzentration und Zeit es die Bakterien abtötet;
- e) in welcher Konzentration, Zeit und Form es auch die Sporen vernichtet;
- f) in welcher Konzentration und Form das Mittel eventuell an lebenden, mit der betreffenden Bakterienart imprägnierten Tieren und Menschen als keimtötendes Mittel versucht werden könnte.

Betreffs der zu obigen Versuchen notwendigen Kenntnis der Biologie und

<sup>1)</sup> E. Fischer, Chem. Ber. Jg. 28, 1895, p. 1508.

<sup>2)</sup> Schneegans u. Gerock, Arch. d. Pharmazie Bd. 232, 1894, p. 437.

<sup>3)</sup> Pflügers Arch. Bd. 89, 1902, p. 493.

<sup>4)</sup> Th. W. Engelmann, Ueber Bacterium photometricum. Pflügers Arch. Bd. 30, 1883, p. 95. Vergl. auch Bd. 32, p. 80.

<sup>5)</sup> Bac. pyocyaneus z. B. erzeugt sechs verschiedene Enzyme. Bakt. Cbl. 31, 1902, Nr. 1—2.

Systematik der Mikroorganismen verweise ich auf die orientierenden Werke von K. B. Lehmann und R. O. Neumann<sup>1)</sup> sowie von C. Flügge<sup>2)</sup>. Die zu allen diesen Versuchen notwendige Technik findet man beschrieben bei Hueppe<sup>3)</sup>, auf den ich hiermit verwiesen haben möchte. Betreffs der eventuell möglichen Fehler möchte ich zunächst auf einen sehr groben, aber schon von zahlreichen Experimentatoren begangenen chemischen hinweisen, nämlich den, dass man die Sporen, welche man aus dem Gift herausnimmt und auf ihre Keimfähigkeit untersuchen will, nicht genügend erst von allem noch etwa anhaftenden Gift befreit, was doch durchaus nötig ist, wenn man nicht Trugschlüsse bekommen will. Infolge Nichtbeachtung dieser Regel sind die meisten Versuche, welche z. B. mit an Seidenfäden eingetrockneten Milzbrandsporen über die desinfizierende Wirkung sehr verdünnter Sublimatlösungen gemacht worden sind, unrichtig. Ein zweiter Fehler, der mehr physikalischer Natur ist, besteht darin, dass man oft nicht genug Sorge trägt, dass die an einem Objekt haftenden Sporen und Pilze, welche oft einen Wachs- oder Fettmantel um sich haben, wirklich von der zu untersuchenden Giftsubstanz berührt, d. h. benetzt werden. Der erstgenannte Fehler wird uns dazu führen, die desinfizierende Kraft einer Substanz zu überschätzen; der zweite Fehler wird uns veranlassen, sie zu unterschätzen. Ich verweise betreffs dieser Punkte auf eine keineswegs veraltete lehrreiche Auseinandersetzung zwischen J. Geppert<sup>4)</sup> und Behring<sup>5)</sup>.

Was die zweite Versuchsreihe anlangt, so ist festzustellen, in welcher Weise unser Gift durch die verschiedensten Bakterien chemisch umgewandelt wird. Diese Frage wurde von den Fachbakteriologen früher zu stiefmütterlich behandelt. Einzelne Stoffe werden nämlich durch die Mikroorganismen oxydiert, andere reduziert (bei Luftabschluss), andere hydratisiert, noch andere zerlegt (z. B. die Glykoside) in teils giftige, teils ungiftige Spaltungsprodukte, noch andere in uns noch unverständlicher Weise umgewandelt. Nachdem diese Veränderungen qualitativ nachgewiesen sind, ist weiter zu erforschen, wie vollständig diese Umwandlung ist, und in welcher Nährlösung dieselbe am schnellsten vor sich geht. Dass die Versuche bei verschiedenen Temperaturen, bei verschiedener Belichtung und teils bei Sauerstoffzutritt, teils bei Abschluss desselben anzustellen sind, ist selbstverständlich.

## II. Versuche an Schimmelpilzen.

1. Man züchtet die gewöhnlichen Spezies von *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* etc. und sucht dieselben Fragen zu beantworten, welche eben für die Spaltpilze besprochen worden sind.

2. Nach Pruriewitsch<sup>6)</sup> sondern *Aspergillus niger*, *Aspergillus glaucus* und *Penicillium glaucum* Emulsin ab. Es lassen sich also an Kulturen dieser Pilze alle Versuche wiederholen, welche oben (S. 150) für Emulsin besprochen worden sind. Von Glykosiden, welche durch diese Schimmelpilze mittels abgesonderten Emulsins nach A. Brunstein<sup>7)</sup> gespalten werden, nenne ich Helicin, Salicin, Arbutin, Amygdalin. Bei Saponinsubstanzen, welche kein riechendes Spaltungsprodukt liefern, würde darauf zu achten sein, ob ein in Wasser unlöslicher Spaltungskörper (Sapogenin) entsteht.

3. Nach C. Wehmer<sup>8)</sup> produzieren *Citromyces Pfefferianus* und

<sup>1)</sup> Atlas u. Grundriss der Bakteriologie u. Lehrbuch der spez. bakt. Diagnostik. 2 Teile. Zweite Aufl. München 1899. Der Atlas ist farbig und sehr instruktiv.

<sup>2)</sup> Die Mikroorganismen. Dritte völlig umgearbeitete Auflage mit Abb. Leipzig 1896.

<sup>3)</sup> Die Methoden der Bakterienforschung. Vierte vollständig umgearbeitete und wesentlich verbesserte Auflage. Wiesbaden 1889.

<sup>4)</sup> B. kl. W. 1889 Nr. 36; 1890 Nr. 11—13; D. m. W. 1891 Nr. 25—27.

<sup>5)</sup> D. m. W. 1891 Nr. 29—30.

<sup>6)</sup> Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1899.

<sup>7)</sup> Beihefte zum bot. Cbl. Bd. 10, 1901, Heft 1.

<sup>8)</sup> Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze. Erstes Heft. Mit Abb. Hannover u. Leipzig 1893.

*Citromyces glaber* in zuckerhaltigen Nährlösungen bis über 10% Citronensäure. Man prüfe, inwieweit das fragliche Gift diesen interessanten Bildungsprozess hemmt.

4. Nach Gosio<sup>1)</sup> wandelt *Penicillium brevicaulis* nicht riechende Arsenverbindungen, welche seinem Nährboden zugesetzt werden, in intensiv knoblauchartig riechende um. Man kann daher schon bei ausserordentlich kleinen Mengen von Arsen diesen Geruch entwickeln und benutzt daher Reinkulturen unseres Pilzes auf Brot oder Kartoffeln zum Nachweis von Arsen. Diese biologische Arsennachweismethode hat sich bereits sehr eingebürgert. Der riechende Stoff lässt sich als *corpus delicti* aufbewahren, da er nach Riginelli<sup>2)</sup> in eine Quecksilberchloridlösung geleitet Krystalle von Quecksilberchlorid-Diäthylarsin  $\text{AsH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2 + 2\text{HgCl}_2$  bildet.

Ausser *Penicillium brevicaulis* können auch *Penicillium glaucum* (Morpurgo und Brunner) sowie noch andere Spezies von *Penicillium*, Arten von *Aspergillus* und von *Mucor* (Marpmann) in gleicher Weise zum Arsennachweis benutzt werden. Natürlich kann man diese zum biologischen Arsennachweis dienenden Pilze auch benutzen, um zu studieren, inwieweit diese ihre Fähigkeit durch ein beliebiges zu prüfendes Gift geschädigt wird.

5. Eine Reihe von Schimmelpilzen wie *Mucor racemosus*, *Mucor circinelloides*, *Mucor spinosus*, *Aspergillus Oryzae* (japanische Hefe), *Amylomyces Rouxii* (chinesische Hefe), *Eurotium Gayoni* (Duclauxsche Hefe) besitzen die Fähigkeit Alkohol zu bilden, und können daher in analoger Weise wie die gleich zu besprechenden echten Hefen zur Prüfung von pharmakologischen Agentien benutzt werden.

### III. Versuche an Hefearten.

Wir kennen jetzt eine grosse Anzahl echter Hefearten, welche keineswegs in ihren Wirkungen mit der Bier- und Weinhefe übereinstimmen, sondern zum Teil auf andere Zuckerarten einwirken und zum Teil ganz andere Produkte (Farbstoffe, Oxalsäure, Bitterstoffe etc.) bilden. Gute Orientierung darüber findet man bei E. P. Meinecke<sup>3)</sup>. Ueber die lediglich zur Gewinnung alkoholischer Getränke benutzten Reinhefen sei auf L. Grünhut<sup>4)</sup> und Delbrück<sup>5)</sup> verwiesen. Die Versuche an den Hefen zerfallen in folgende Gruppen:

1. Man prüft den Einfluss des fraglichen Mittels auf das Wachstum, die Vermehrung und die Glykogenbildung der in Nährlösung suspendierten Hefezellen. Betreffs des Glykogens hat man die Angaben von M. Cremer<sup>6)</sup> zu Grunde zu legen.

2. Man prüft den Einfluss des Mittels auf die von energisch gärender Hefe gebildete Wärme. Alsdann wiederholt man diese Versuche an „fiebrernder Hefe“, wo man die von Max Herz<sup>7)</sup> darüber gemachten Versuche zu Grunde legt.

<sup>1)</sup> Rivista d'igiene e san. pubbl. 1892; Archives ital. de Biol. 1892, vol. 18, p. 253; Sul riconoscimento dell' arsenico per mezzo di alcune muffe. Roma 1892; Chem. Ber. Jg. 1897, p. 1024. — Abel u. Buttenberg, Ztschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 32, p. 449. — Galli-Valerio u. Cas. Strzyżowski, Pharm. Post 1900 Nr. 45—46. — Marpmann, Pharm. Centralhalle Jg. 41, 1900, p. 666; Chem. Cbl. 1900, Bd. 2, p. 1187. — G. Morpurgo u. A. Brunner, Giorn. di Farm. di Trieste 1898, 3, p. 194.

<sup>2)</sup> Chem. Cbl. 1900 Bd. 2, p. 1067.

<sup>3)</sup> Die Hefe, Morphologie und Physiologie, praktische Bedeutung und Hefe-reinzucht. München und Leipzig 1898. Mit Abb. und Litt.

<sup>4)</sup> Die Einführung der Reinhefe in die Gärungsgewerbe. Stuttgart 1896. Die Chemie des Weines. Stuttgart 1897.

<sup>5)</sup> Chemikerztg. 1902, p. 201.

<sup>6)</sup> Ztschr. f. Biologie Bd. 31, 1894; p. 183.

<sup>7)</sup> Untersuchungen über Wärme und Fieber. Wien 1893. Mit Abb.

3. Man prüft den Einfluss auf die Intensität der Bildung von Alkohol und Kohlensäure. Alsdann wiederholt man diese Versuche unter Ausschluss der Hefezellen an Buchnerscher Zymase, die zu jedem Versuche frisch darzustellen ist. Von bisher gemachten hierher gehörigen Versuchen scheinen mir folgende bemerkenswert. Nach H. Schulz<sup>1)</sup> sollen diejenigen Stoffe, welche in grossen Dosen die Hefegärung schädigen, sie in kleinen Dosen begünstigen. Ganz besonders gilt dieser Satz für die meisten Antiseptica. So wirkt nach Effront<sup>2)</sup> chronische Fluorammoniumvergiftung bei mässigen Dosen (100—200 mg pro Liter) auffallend stark anregend auf die alkoholbildende Kraft, während etwas grössere Dosen die Lebensthätigkeit der Hefen aufheben. Schweflige Säure wirkt schon bei 50 mg pro Liter langsam abtötend; freies Jod, Chlor und Kaliumpermanganat töten nach Th. Bokorny<sup>3)</sup> schon bei sehr geringer Menge. Borsäure ist bei 0,2% noch ohne Wirkung und wirkt selbst bei 1% nur hemmend, nicht abtötend. Von Salzen, welche die Gärung günstig beeinflussen, nennt Dumas Kaliumphosphat, Kaliumsulfat, Kaliumchlorid, Ammoniumphosphat, Calciumphosphat; von Salzen, welche sie verlangsamen, nennt derselbe Autor Kaliumnitrat, Kaliumarsenit, Kaliumjodid, Natriumborat. 1%ige Lösungen freier organischer Säuren begünstigen die Alkoholbildung, nur Oxalsäure vermindert sie. Blausäure schläfert in kleinen Dosen die Hefe ein und tötet sie in grossen Dosen ab. Chloroform und Chloralhydrat wirken ähnlich. Das Gleiche gilt von Chininsalzen, während Nikotin- und Strychninsalze in kleinen Dosen nach Dumas anregend wirken. Bokorny allerdings fand bei diesen beiden Alkaloiden nur schädigende Wirkungen.

4. Man prüft den Einfluss auf die invertierende Kraft der Hefen bei Zusatz abgemessener Mengen von Rohrzucker (d. h. auf Sukrase), von Malz-zucker (d. h. auf Maltase oder Glukase), von Milchzucker (d. h. auf Laktase). Von Substanzen, welche die Sukraseabscheidung der Hefe begünstigen, nennt Dumas Kaliumnitrit, Kaliumchromat und Salmiak. Die Alkoholbildung wird durch diese Salze keineswegs begünstigt.

5. Man prüft nach Zusatz von fein verteiltem Schwefel zu Hefebrei die Schwefelwasserstoff bildende Kraft der Hefe und nach Zusatz von fein verteiltem weissen Phosphor die Phosphorwasserstoff bildende Kraft derselben. Man hält sich dabei an die Versuche von J. de Rey-Pailhade<sup>4)</sup> über das sogen. Philothion der Hefe.

6. Man prüft nach Zusatz von unpeptonisiertem Eiweiss die peptonisierende Kraft, d. h. die Peptasemenge der durch Erwärmen gesprengten oder durch Zerreiben vernichteten Hefezellen.

7. Man prüft an Hefearten, welche Farbstoffe, Bitterstoffe, Säuren bilden, den Einfluss des Mittels auf diese Bildungen.

#### IV. Versuche an anderen niederen Pflanzen und an abgetrennten Teilen höherer.

1. Von niederen Pflanzen kommen hier namentlich die Algen (z. B. Oscillaria, Spirulina, Nostoc, Zygnema und Spirogyra) und die Farne in Betracht. Man beobachtet bei denselben unter dem Einflusse des Giftes und ohne Gift:

a) die Protoplasmabewegungen in den Zellen (z. B. von Characeen), die Bewegungen der Samenfäden der Farne<sup>5)</sup> und die der Schwärmosporen vieler Kryptogamen;

b) die Zellteilung und Sporenbildung;

c) die Sauerstoffabscheidung der Algen am Licht;

<sup>1)</sup> Pflügers Arch. Bd. 42, 1888, p. 517.

<sup>2)</sup> Compt. rend. T. 117, 1894, p. 559.

<sup>3)</sup> Allgem. Brauer- u. Hopfenztg. Jg. 36, 1896, p. 1573.

<sup>4)</sup> Compt. rend. T. 107, 1890, p. 43, T. 108, 1890, p. 356, T. 118, 1894, p. 201.

<sup>5)</sup> Vergl. C. Voegler, Bot. Ztg. 1891, Nr. 39—43, p. 642 (Reizbewegungen durch äpfelsaure Salze). Siehe auch oben S. 27.

d) bei *Spirogyra* die Abscheidung von schwarzem Silber aus ammoniakalischen Lösungen von Höllenstein. Man verfähre dabei nach den Angaben von O. Loew und Th. Bokorny<sup>1)</sup>.

Manche Stoffe sind für Algen viel giftiger als für Pilze. Dies konnte Bokorny<sup>2)</sup> z. B. für Pikrinsäure und deren Salze nachweisen.

2. Von Teilen höherer Pflanzen eignen sich die Zellen der Blätter der *Drosera* und die Staubfadenhaare der *Tradescantia* wegen ihrer Protoplasma-bewegungen zur mikroskopischen Beobachtung unter der Einwirkung von Giften. Betreffs vieler Einzelheiten verweise ich auf die Zusammenstellung der Litteratur über die Einwirkung von Giften auf Pflanzenprotoplasma bei Pfeffer<sup>3)</sup>, sowie auf Marcacci<sup>4)</sup>. Interessante Angaben über die durch Gifte hervorgerufene Störung der Bewegung der Blätter insektenfressender Pflanzen stammen von Darwin<sup>5)</sup>. Ohne Frage handelt es sich auch hier um Protoplasma-bewegungen.

3. Von chemischen Vorgängen, welche sich sowohl an niederen als besonders gut an abgeschnittenen Teilen höherer Pflanzen unter der Einwirkung von Agentien studieren lassen, nenne ich die Stärkebildung in gewöhnlichen Blättern und die Chlorophyllbildung in etiolierten Blättern. Man lässt dieselben auf 10%iger Zuckerlösung schwimmen. Derartige Versuche an etiolierten Blättern von *Vicia Taba* machte N. Markowine<sup>6)</sup> unter Zusatz von Alkaloidsalzen. Am giftigsten erwies sich Chinin, dann folgen Cinchonin, Koffein, Morphin, Kokain, Strychnin, Atropin, Brucin, Pilocarpin. Die Atmungsintensität wurde von allen gesteigert.

4. Sowohl an niederen Pflanzen als an einzelnen Zellen und Zellenkomplexen höherer lassen sich physikalisch-chemische Versuche über Isotonie und Plasmolyse verschieden konzentrierter Lösungen der zu untersuchenden Substanz machen. Die für solche Versuche notwendigen physikalisch-chemischen Angaben, welche hier viel zu weit führen würden, finden sich in vorzüglicher Weise zusammengestellt bei H. J. Hamburger<sup>7)</sup>, ein Buch, auf welches ich noch mehrmals zu verweisen haben werde und welches auch die gesamte uns angehende physikalisch-chemische Litteratur aufzählt.

Ueber Versuche an ganzen höheren Pflanzen wird S. 164 gesprochen werden.

## V. Versuche an wirbellosen Tieren unter dem Mikroskop.

Wir werden S. 166 Versuche an grösseren Avertebraten besprechen; hier interessieren uns zunächst solche Versuche, welche bei Lupen- oder Mikroskopvergrößerung an ganzen an sich sehr kleinen Tieren mit charakteristischen Bewegungserscheinungen und an abgetrennten weiter lebenden Stückchen höherer Avertebraten gemacht werden können.

### 1. Versuche an ganzen, aber sehr kleinen Avertebraten.

a) Ueberall wird man sich leicht **Amöben** und **Infusorien** verschaffen können. Bei ersteren beachtet man die Bewegung der Pseudopodien, bei letzteren das Spiel der Cilien. Bei beiden existieren ferner im Protoplasma contractile

<sup>1)</sup> Pflügers Arch. Bd. 34, 1884, p. 596 u. 601; Bd. 64, 1896, p. 262 (sehr viele Substanzen); Bot. Cbl. Bd. 21, 1885, p. 386; Sitz.-Ber. d. Münchener chem. Ges. vom 5. Juli 1889; Chemiker-Ztg. 1894, p. 1739 (Versuche mit Cer, Tellur, Wolfram).

<sup>2)</sup> Chemiker-Ztg. 1896, p. 963.

<sup>3)</sup> W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie, zweite Aufl., Bd. 2.

<sup>4)</sup> A. Marcacci, Annali di Chim. e di Farm. vol. 5, 1887, p. 3.

<sup>5)</sup> Ch. Darwin, Insektenfressende Pflanzen. Deutsche Ausgabe (Leipzig 1876), p. 179.

<sup>6)</sup> Revue gén. de Bot. 1901, livr. 3—6; Bot. Ztg. 1901, p. 246.

<sup>7)</sup> Osmotischer Druck und Ionenlehre in den med. Wissenschaften. Zugleich Lehrbuch physikalisch-chemischer Methoden. 2 Bände. Erster Band (Wiesbaden 1902) p. 1.

Vakuolen, deren Zusammenziehungen etwa in der Frequenz von Respirationen auftreten und irgend welche Stoffwechselprodukte nach aussen schaffen. Von Infusorien nenne ich *Paramecium Bursaria* und *P. caudatum* sowie *Opalina*, welche im Froschdarm häufig sind, sowie das im Menschenkot bisweilen sich findende *Balantidium coli*. Von Autoren, welche an Paramäcien gearbeitet haben, nenne ich ausser C. Binz namentlich H. v. Tappeiner<sup>1)</sup> sowie seine Schüler Grethe<sup>2)</sup> und Raab<sup>3)</sup>.

b) Von den **Turbellarien** kommen namentlich die rhabdocölen hier in Betracht. Ich nenne *Mesostoma*, *Vortex* und *Mikrostoma*.

c) Bei den **Rotatorien** lässt sich das Spiel der Cilienkränze sehr gut beobachten.

d) Von den **Anneliden** lassen sich namentlich die limicolen Oligochäten wie *Nais* und *Chaetogaster* verwenden. Man beobachtet bei ihnen Muskel- und Darmbewegung.

e) Von den **Crustaceen** kommen die Daphniden, Cyclopiden und Cypriden in Betracht. Bei den Daphniden lässt sich ausser der lebhaften Körperbewegung auch noch Pulsation des Herzens beobachten.

f) Von den **Insekten** eignen sich die Ephemeridenlarven, sowie die *Corethra plumicornis* ausgezeichnet zu mikroskopischer Beobachtung.

g) Von den **Nematoden** kommen nur die freilebenden in Betracht. Ich nenne namentlich *Rhabditis*.

Alle diese Tiere beobachtet man zuerst in etwas Brunnenwasser und setzt, nachdem man das normale Verhalten genügend studiert hat, einen Tropfen der Gifflösung zu. Falls man im Uhrglas oder im ausgehöhlten Objektträger mit abgemessenen Wassermengen arbeitet, kann der Versuch sehr gut quantitativ gemacht werden.

h) Anhangsweise seien noch die Eier und Spermatozoen der verschiedensten Avertebraten genannt, z. B. Spermatozoen von Muscheln und Schnecken und Eier von Wasserschnecken (*Limnaeus*), Anneliden, Spulwürmern. Man kann bei den Eiern zwar keine eigentliche Bewegung beobachten, wohl aber Teilungsvorgänge. Bei den Spulwurmeiern ist zu bemerken, dass sie eine fast ganz undurchdringliche dicke Schale haben, so dass die von *Ascaris lumbricoides* nach guten Beobachtern selbst in Alkohol, Chromsäure und in Kanadabalsam noch Teilungsvorgänge zeigen, ehe sie absterben. Sehr interessante Versuche über die Entwicklung der Eier von *Arbacia* und *Chaetopterus* unter Einfluss einzelner Agentien stammen von J. Loeb<sup>4)</sup>. Versuche an den Eiern von *Bombyx Mori* machte E. Perroncito.

2. Versuche an Bruchstücken von eventuell grösseren Avertebraten.

Diese Versuche ergänzen die der vorhergehenden Gruppe aufs beste. Bei *Spongilla* kann man durch Zerdrücken einen Zerfall in sehr viele Stückchen herbeiführen, von denen auch das kleinste, nur aus einer Zelle bestehende, sich weiter bewegt. Auch Teile der *Hydra* leben weiter. Bei den Wasserschnecken kann man an abgeschnittenen Tentakeln und Fussstücken das Spiel der Flimmern stundenlang beobachten. Das klassische Objekt zur Beobachtung von Gifteinwirkung auf Flimmern liefern uns die Muscheln (*Anodonta* und *Unio*), bei denen Stücke des Kiemensausms und Mantels ein ganz ausgezeichnetes Flimmerspiel tagelang in Flusswasser zeigen.

Gifte, welche bei allen bis jetzt (S. 149—155) genannten Versuchsarten rasch abtötend wirken, pflegen wir als Protoplasmagifte anzusprechen. Repräsentanten dieser Klasse sind das Quecksilbersublimat, das Jodecyan, das Hydroxylamin, das Hydrazin und das Formalin. (Vergl. oben S. 32.)

<sup>1)</sup> M. m. W. 1900, Nr. 1; Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. in München, 1901, Heft 1.

<sup>2)</sup> D. Arch. f. klin. Med. Bd. 56, 1895 (Versuche mit Chininderivaten).

<sup>3)</sup> Ztschr. f. Biologie Bd. 39 [N. F. Bd. 21], p. 524 (Versuche mit fluoreszierenden Stoffen).

<sup>4)</sup> Americ. Journ. of Physiol. Vol. 3, 1900, Nr. 9 und Vol. 4, 1901, Nr. 9.

## VI. Versuche an Eiern, Spermatozoen und Flimmerzellen von Wirbeltieren.

Dieselben Versuche, welche eben an Eiern und Spermatozoen von Wirbellosen besprochen wurden, lassen sich natürlich auch an solchen von Wirbeltieren wiederholen.

1. Von Eiern kommen namentlich die der Amphibien und Fische in Betracht, die man in gifthaltigem Wasser hält und auf ihre Weiterentwicklung hin alle 2—3 Tage prüft. So stellte z. B. J. Loeb<sup>1)</sup> an denen des Knochenfisches *Fundulus* Versuche über die Einwirkung der ein- und zweiwertigen Kationen an.

2. Von Spermatozoen kann man solche aller Wirbeltierklassen benutzen. Es kommt bei diesen darauf an, festzustellen, wie lange sie ihre Eigenbewegung behalten. Falls man solche vom Frosch benutzt, thut man gut, zum Vergleich auch

3. Stückchen der mit Flimmern besetzten Rachenschleimhaut und der sogen. Flimmerkörperchen des Oesophagus<sup>2)</sup> mit zu verwenden. Versuche an diesen Gebilden unter Einwirkung von Giften machten z. B. Engelmann sowie Rich. Jacobson<sup>3)</sup>.

## VII. Beobachtungen an isolierten Leukocyten.

Zur Gewinnung grösserer Mengen lebender, nicht verunreinigter Leukocyten stehen uns drei Wege offen: 1. aus defibriniertem Pferdeblut, dessen Leukocyten sich viel langsamer senken als die roten Blutkörperchen; 2. aus durch Injektion von Aleuronataufschwemmung<sup>4)</sup> in eine Körperhöhle von Versuchstieren erzeugtem zellenreichem künstlichem Exsudat; 3. aus krankhaftem Exsudat z. B. einer menschlichen Pleuritis. Dass es mehrere Sorten von weissen Blutkörperchen giebt, habe ich schon S. 61 aufgezählt. Nach Fr. Hesse<sup>5)</sup> können diese ineinander übergehen.

1. Versuche, in welcher Konzentration die zu prüfende Substanz isotonisch, hyperisotonisch und hypisotonisch wirkt. Man hält sich dabei an die Angaben von Hamburger (vergl. S. 154). Im allgemeinen gelten dabei für rote und für weisse Blutkörperchen dieselben Gesetze.

2. Beobachtung der amöboiden Bewegungen, welche seit Wharton Jones (1846) bekannt sind.

Zu diesen Versuchen können die weissen Blutkörperchen der verschiedensten Tiere benutzt werden. Man thut gut, sowohl solche von Wirbellosen (Insekten<sup>6)</sup>, Daphniden, Krebsen<sup>7)</sup>, von Fröschen und von Warmblütern (Hunden, Kaninchen, Pferden) zu verwenden. Ueber die bizarren Formen, welche sie bei der Bewegung annehmen, siehe Fig. 11 auf S. 62. Man beobachtet dieselben auf dem geheizten

<sup>1)</sup> Pflügers Arch. Bd. 88, 1902, p. 68. Vergl. Schm. Jb. Bd. 208, p. 305.

<sup>2)</sup> Curt Schmidt, Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 20.

<sup>3)</sup> Ztschr. f. Biologie Bd. 41 [N. F. Bd. 23], p. 444 (fluoreszierende Stoffe).

<sup>4)</sup> Vergl. H. Buchner, Die chemische Reizbarkeit der Leukocyten und deren Beziehung zur Entzündung und Eiterung. B. kl. W. 1890, Nr. 47.

<sup>5)</sup> Virch. Arch. Bd. 167, 1902, p. 231 (unter Arnold).

<sup>6)</sup> Landois, Beobachtungen über das Blut der Insekten. Ztschr. f. wissensch. Zoologie Bd. 14, 1864, p. 68. — Graber, Ueber die Blutkörperchen der Insekten. Wiener Sitz.-Ber. Bd. 64, 1871, erste Abt., p. 9.

<sup>7)</sup> W. B. Hardy, Journ. of Physiol. vol. 13, 1892, p. 165 (es giebt 3 Arten von Blutkörperchen bei den Krebsen).

Objektisch<sup>1)</sup>, im Serum oder Kochsalzlösung suspendiert, und überzeugt sich, ob die Giftsubstanz ihre Spontanbewegungen schon bei starker Verdünnung aufhebt. Solche Versuche stellten z. B. J. Massart und Ch. Bordet<sup>2)</sup> mit Chloroform an.

3. Beobachtung der phagocytären Einwirkung auf Mikroben und unbelebte Körnchen (Zinnober, Tusche, Indigo). Auch diese Untersuchung kann nur auf dem geheizten Objektisch gemacht werden, erfordert aber Zeit und Geschick.

4. Beobachtung der Form, des Aussehens und des Zerfalles der durch das Gift unbeweglich gewordenen Leukocyten. Auch in dieser Beziehung wirken die Gifte sehr verschieden, wie namentlich Dogiel dargethan hat.

5. Beobachtung des Reduktionsvermögens für Methylenblau. Dieser Farbstoff wird von in Aleuronatexsudat suspendierten, von der Luft abgeschlossenen Leukocyten, so lange sie lebenskräftig sind, rasch entfärbt, von z. B. mit Chinin vergifteten aber nicht in gleicher Weise. Ich verweise auf die Angaben von M. Neisser und Fr. Wachsberg<sup>3)</sup>. Diese Autoren nennen diese Untersuchungsmethode Bioskopie. Analoge Versuche sind auch an reduzierenden Bakterien möglich. Ausführliche Litteraturangaben darüber siehe bei Klett<sup>4)</sup>.

## VIII. Versuche an roten Blutkörperchen und an ganzem Blute.

Um Irrtümern vorzubeugen, sei gleich im voraus bemerkt, dass diese Versuche die weiter unten folgenden Untersuchungen des Blutes vergifteter Tiere nicht etwa ganz ersetzen können; sie sind jedoch bei vielen Blutgiften im stande, das Ergebnis jener vorauszusagen und die Zahl der zu vergiftenden Tiere auf ein Minimum herabzudrücken. Soweit diese Versuche sich nur auf rote Blutkörperchen oder Serum beziehen, stellt man sie an defibriniertem Blute von Mensch, Rind, Schaf, Ziege, Schwein, Pferd, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratte, Hund, Katze etc. an, sofern solches zu haben ist. Da das Blut des Pferdes, der Katze und des Kaninchens beim Stehen recht rasch die Hälfte seines Volumens an Plasma resp. Serum absetzt, so kann man die am ganzen defibrinierten Blute gewonnenen Resultate leicht nachprüfen am Serum resp. an dem von der Hauptmenge seines Serums befreiten und dafür mit 0,75—0,90 % Kochsalzlösung versetzten Blutkörperchen. Wo eine Zentrifuge zur Verfügung steht, wird man natürlich diese zur Serumgewinnung verwenden. Sobald das vorrätige Blut beim Schütteln mit Luft nur schwer arteriell wird und zu riechen anfängt, kann man sicher sein, dass seine Blutkörperchen in Zersetzung begriffen sind; man wirft es dann am besten weg. Die Versuche an undefibriniertem Blute, zu denen man auch Aderlassblut gesunder Menschen verwenden kann, müssen natürlich entweder gleich in den ersten Minuten nach dem Ausströmen aus dem Gefässsystem oder in durch Eis gekühlten Gefässen oder endlich nach Zusatz von gerinnungswidrigen Stoffen, wie Natrium citricum, Natrium oxalicum oder Fluornatrium, angestellt werden. Im ganzen haben wir das Blut, wie aus

<sup>1)</sup> Eine Zusammenstellung, Beschreibung und Abbildung der üblichsten älteren Arten von heizbaren Objektischen findet sich bei R. Gscheidlen, physiologische Methodik (Braunschweig 1876), p. 249. Eine neue Art hat Pfeffer in der Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. u. mikr. Technik Bd. 7, 1891, Heft 4 beschrieben und abgebildet.

<sup>2)</sup> Journ. de Bruxelles 90, mars 1890, Nr. 20.

<sup>3)</sup> M. m. W. 1900, Nr. 37.

<sup>4)</sup> Ztschr. f. Hyg. Bd. 33, 1900, p. 137.

dem nachfolgenden ersichtlich sein wird, in sechserlei Form zu untersuchen.

1. Bei **undefibriniertem Blute** ohne Zusatz der beiden eben erwähnten Salze ist festzustellen, ob das Mittel die Fibringerinnung<sup>1)</sup> der Art oder Zeit nach beeinflusst. Man muss dabei die Konzentration recht verschiedenartig wählen, da es Mittel giebt, welche bei kleinen Dosen die Gerinnung beschleunigen, bei grossen aber aufheben. Stets muss in einem Kontrollglase das Lösungsmittel der Substanz (am besten physiologische Kochsalzlösung) ohne das Gift dem Blute zugesetzt werden und in einem zweiten Kontrollglase das Blut allein ohne Zusatz beobachtet werden. Man notiert den Zeitpunkt der beginnenden und den der vollendeten Erstarrung. 24 Stunden nach der Erstarrung vergleicht man die Form des gebildeten Blutkuchens und die Menge des ausgepressten Serums. Es giebt Gifte, welche die Fähigkeit des Blutkuchens, Serum auszupressen, aufheben. Hierher gehört z. B. das Spinnengift. — Endlich sind alle hier folgenden Versuche an defibriniertem Blute später auch an undefibriniertem, aber gerinnungsunfähig gemachtem zu wiederholen. Dies wird erreicht durch Zusatz von Salzen der Oxalsäure, Citronensäure, Fluorwasserstoffsäure sowie durch Zusatz von Blutegelextrakt und Ixodesextrakt. Handelspepton wirkt nur bei Einspritzung ins Blut gerinnungswidrig.

2. Versuche an **defibriniertem Blute**. Diese erfordern zu ihrem Verständnis und zu ihrer richtigen Wertschätzung einige Vorbemerkungen.

Kurze Zeit, nachdem Hugo de Vries (1882) an isolierten Pflanzenzellen, welche er in verschiedenen konzentrierte Lösungen der verschiedensten Salze gebracht und dann Eintreten oder Nichteintreten von Plasmolyse untersucht hatte, den Begriff der Isotonie und der isotonischen Koeffizienten geschaffen hatte, wies H. J. Hamburger nach, dass das Gesetz der isotonischen Koeffizienten auch für rote Blutkörperchen gilt, und begründete damit (1883) die Aera der medizinisch-physikalisch-chemischen Forschung. In glücklichster Weise wurde diese Forschung durch Hineinziehen der Theorien von van't Hoff und Arrhenius (1892) auf eine breite Basis gestellt, und es wurden ihr die verschiedensten Gebiete erschlossen. Ich verweise betreffs dieser Theorien auf Hamburgers schon S. 154 erwähntes Werk, dessen erster Band sich speziell mit der physikalischen Chemie des Blutes beschäftigt. Für die Toxikologie wurden die Untersuchungen an roten Blutkörperchen<sup>2)</sup> speziell nach der Seite der Hämolyse und der Agglutination hin durch mich und meine Schüler als eindeutiger humaner Ersatz vieldeutiger tierquälerischer Versuche in den achtziger Jahren in das rechte Licht gerückt. Endlich haben die Bakteriologen und Serumforscher den Versuchen über Agglutination und Hämolyse an Blut auch auf ihrem Forschungsgebiete eine ungeahnte Bedeutung verschafft. — Die Hülle der roten Blutkörperchen ist für Wasser, Harnstoff und für hämolytisch wirkende Gifte permeabel, nicht jedoch für die meisten Krystalloide. — Von den Blutkörperchen der üblichen Säugetierblutarten gegenüber isotonischen Salzlösungen ist zum praktischen Gebrauche bei den nachstehenden Versuchen 0,9%ige Chlor-natriumlösung die brauchbarste, während für Froschblut schon eine 0,6%ige genügt. Der Begriff der sogen. physiologischen Kochsalzlösung ist also in dem Sinne früherer Autoren, welche darunter stets eine 0,6%ige verstanden, nicht mehr haltbar; vielmehr erfordert genau genommen jede Blutart ihre besondere Konzentration, für die meisten Säugetierblutarten liegt diese Konzentration

<sup>1)</sup> E. Schwalbe, *Untersuch. zur Blutgerinnung*. Braunschweig 1900. Ferner M. m. W. 1901, Nr. 10 (Einfluss von Salzlösungen auf die Morphologie der Gerinnung).

<sup>2)</sup> Siehe Arbeiten des pharmakol. Instituts zu Dorpat, hsgbn. von R. Kobert, Bändchen 1—14. Stuttgart 1887—1896.

weit über 0,6% und zwar teils dicht über, teils dicht unter 0,9%. Auch zwischen defibriniertem und nicht defibriniertem Blute, sowie zwischen arteriellem und venösem besteht ein kleiner Unterschied. Die isotonischen Konzentrationen verschiedener Salze verhalten sich zu einander wie die Molekulargewichte, falls die verglichenen Salze gleich viel Alkaliatome im Molekül haben. Da das Molekulargewicht von  $\text{ClNa} = 58,5$ , das von  $\text{JNa} = 150$  und das von  $\text{KNO}_3 = 101$  ist, würde also bei Froschblutversuchen statt 0,58%iger Kochsalzlösung auch eine 1,5%ige Jodnatriumlösung und eine 1,01%ige Salpeterlösung genommen werden können. Für Salze mit 2 und mit 3 Alkaliatomen, für Salze der alkalischen Erden und für organische Stoffe lässt sich die Konzentration der damit isotonischen Lösungen berechnen, wenn man die Molekulargewichte noch mit einem von de Vries festgestellten Faktor multipliziert. Da dieser Faktor stets ein Bruch ist, der sich durch Multiplikation mit 3 in eine ganze Zahl umwandeln lässt, so hat de Vries der Bequemlichkeit wegen diese ganzen Zahlen als isotonische Koeffizienten bezeichnet. Sie sind

für neutrale Alkalisalze einer einbasischen Säure	=	3
" " " " zwei-	"	4
" " " " drei-	"	5
" " Erdalkali " zwei-	"	2
" " " " ein-	"	4
" organische Verbindungen	"	2

Merkwürdig ist, dass lebende rote Blutkörperchen sich gegenüber Pankreas-saft nach Max Matthes<sup>1)</sup> in ihrer Form und Zusammensetzung unverändert erhalten, während abgestorbene sich darin auflösen und verdaut werden. Mit Hilfe dieses Mittels soll man bei Vergiftungsversuchen feststellen können, ob die Blutkörperchen abgestorben sind oder nicht. Nach Matthes enthält auch das eigene Serum jeder Blutart ein die eigenen Blutkörperchen, falls sie abgestorben sind, auflösendes Gift. Ich selbst habe die Thatsache dieser Auflösung sehr viele Male wahrgenommen, aber stets mir dadurch zu erklären versucht, dass ich die Bildung eines Autolysins (vergl. S. 110) in den absterbenden Blutkörperchen annahm. Ich bin sogar umgekehrt der Ansicht, dass das normale Serum jeder Blutart ein Antihämolysin enthält, welches die Wirkung eines zugesetzten Blutkörperchen lösenden Giftes abschwächt. Wir werden daher unten erfahren, dass alle derartigen Blutversuche, falls sie genau ausfallen sollen, an serumfreien Blutkörperchen wiederholt werden müssen. Nach allen diesen Erörterungen kommen wir nun zu den eigentlichen Gruppen von Versuchen.

a) Man stellt fest, ob das Gift in das Blutkörperchen eindringt oder nicht. Die schon oben kurz erwähnte Lehre von der Permeabilität der roten Blutkörperchen für pharmakologische Agentien ist bereits in 27 Schriften abgehandelt worden, welche in dem mehrfach citierten Lehrbuche Hamburgers (Erster Teil, S. 202—261) kritisch besprochen werden. Das wenige, was jetzt bereits feststeht, lässt sich in folgende Sätze zusammenfassen. Die roten Blutkörperchen sind impermeabel für die Kationen  $\text{Ca}^+$ ,  $\text{Sr}^+$ ,  $\text{Ba}^+$ ,  $\text{Mg}^+$ , für Rohrzucker, Traubenzucker, Milchzucker, Arabit und Mannit sowie für die Salze der Alkaloide (Lau<sup>2)</sup>). Wenig permeabel sind sie für neutrale Amidosäuren wie Glykokoll und Asparagin; etwas besser dringt Acetamid ein. Als gut eindringend erwiesen sich die Alkohole und zwar in um so höherem Grade, je geringer die Zahl der Hydroxylgruppen im Molekül ist. Mit Ausnahme des Paraldehyds dringen auch die Aldehyde gut ein, ebenso die Ketone, Aether und Ester, das Antipyrin, gewisse Amide, Harnstoff, Urethan und  $\text{NH}_4^-$ -Ionen, endlich freie Säuren, freie Alkalien, gallensaure Salze, Saponinsubstanzen, Solanin etc. Wie man sieht, befinden sich unter den in jeder Konzentration eindringenden sowohl starke Gifte wie Solanin, als gänzlich ungiftige Stoffe wie Harnstoff. Der Unterschied liegt jedoch keineswegs immer darin, dass die einen die Blutkörperchen nach dem Eindringen unter starker Volumsvermehrung von innen heraus zum Zerfall bringen, während die anderen das Volumen der Blutkörperchen nicht ändern; vielmehr erklärt sich bei einer ganzen Anzahl die hämolytische Wirkung durch Hydratation und Verflüssigung der (hypothetischen) Zellmembran der Blutkörperchen<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> M. m. W. 1902, 8—10. Vergl. jedoch H. Sachs, *ibid.* 1902, Nr. 5.

<sup>2)</sup> Carl Lau, Ueber vegetabilische Blutagglutinine. Diss. Rostock 1901.

<sup>3)</sup> Nolf, *Ann. de l'Inst. Pasteur* 14, Nr. 10.

b) Man stellt fest, ob das Gift hämolytisch wirkt, und bei welcher Verdünnung des Giftes gerade noch alle Blutkörperchen aufgelöst werden. Man macht diese Versuche mit möglichst verschiedenen Blutarten, die man 50—100fach mit 0,9%iger Kochsalzlösung verdünnt und in je 10—12 Reagenzgläser einfüllt. Auch das Gift wird in 0,9%iger Kochsalzlösung gelöst und in dieser Form in steigenden bzw. abnehmenden Mengen dem Reagenzglasinhalt zugesetzt. Die hämolytischen Gifte zerfallen in zwei Gruppen. Die einen wirken auf die Blutkörperchen fast aller Säugetiere, ja auch auf die der Vögel und Amphibien und zwar auf nahe verwandte Blutarten in annähernd gleicher Konzentration. Hierher gehören Aether, Chloralhydrat, gallensaure Salze, Solanin und die grosse Gruppe der Saponinsubstanzen, von denen einige noch bei hunderttausendfacher Verdünnung die Blutkörperchen auflösen, gleichgültig, von welchem Säugetiere auch das Blut genommen ist. Die andere Gruppe wirkt nur auf gewisse Blutarten stark, auf andere schwächer und auf noch andere gar nicht. So löst nach L. Weingeroff<sup>1)</sup> das Pyocyaneus-Hämolytin am leichtesten die roten Blutkörperchen des Hundes, dann die des Pferdes und noch weniger die des Meerschweinchens und des Kaninchens. Das Blutserum jeder einzelnen Tierart besitzt schon normalerweise für die Blutkörperchen gewisser anderer Tierarten hämolytische Eigenschaften, so z. B. Kaninchenserum für Meerschweinchenblutkörperchen. Durch Einspritzung irgend einer fremden Blutart kann bei jedem Tiere die hämolytische Kraft gerade für die Blutkörperchen dieser Tierart enorm gesteigert werden. Wie man sich diese merkwürdige Thatsache erklären kann, möge bei P. Ehrlich und J. Morgenroth<sup>2)</sup> nachgelesen werden. Hier sei nur der Satz angeführt, dass nach diesen Autoren „gegen animalische Hämolytine nur solche Blutkörperchen empfindlich sind, welche im stande sind, Hämolytine zu binden.“ Demgemäss ist nach unseren Autoren „die Voraussetzung und die Ursache der Giftwirkung in allen diesen Fällen die Anwesenheit von geeigneten an den Blutscheiben befindlichen Receptoren oder Seitenketten, welche in die haptophoren Gruppen des hämolytisch wirkenden Toxins eingreifen“. Umgekehrt besteht „zwischen der natürlichen Immunität und dem Receptorenmangel der innigste Zusammenhang“. Das Arachnolysin<sup>3)</sup> des Kreuzspinnengiftes wirkt auf das Blut des Kaninchens, der Ratte, der Maus, des Ochsen noch bei mehr als 200 000facher Verdünnung hämolytisch; ich selbst<sup>4)</sup> fand es ebenfalls bei mehr als 100 000facher Verdünnung z. B. auf Rinderblut noch hämolytisch wirkend. Auf das Blut des Meerschweinchens, Pferdes, Hammels und Hundes ist es dagegen nach Sachs gänzlich wirkungslos. — Sehr bemerkenswert ist, dass einzelne ungiftige Stoffe gegen einzelne stark hämolytisch wirkende Gifte, ja gegen ganze Gruppen derselben einen Schutz zu verleihen vermögen, also antihämolytisch wirken, so nach Pohl<sup>5)</sup> Cholesterin gegen Saponinsubstanzen und saures phosphorsaures Natrium gegen Solanin und Ichthyotoxin. Bakterien, welche Hämolytine produzieren, bilden meist daneben auch ein Antihämolytin. So findet sich nach Ehrlich<sup>6)</sup> in den Kulturen des Tetanusbacillus ein (mit dem Tetanospasmus keineswegs identisches) Tetanolysin, daneben aber auch ein Antilysin. Das Tetanolysin löst noch bei mehr als 150 000facher Verdünnung die Blutkörperchen des Pferde- und Kaninchenblutes; weniger stark wirkt es auf Hammelblut und am wenigsten auf Ziegenblut. Sehr bemerkenswert ist bei diesem Gifte die Abhängigkeit der Wirkung von der Temperatur: bei 37° C. wirkt es nach Th. Madsen<sup>7)</sup> 100mal stärker als bei 0—1° C. Man wird also bei der Prüfung eines unbekanntes Giftes auf seine hämolytische Kraft die Versuche bei verschiedenen Wärmegraden anzustellen haben. Endlich ist für sehr viele hämolytische Gifte zu beachten, dass ihre Wirkung auf die Blutkörperchen nur, falls ein Ueberschuss von Gift vorhanden ist, sofort eintritt, während bei gerade hinreichender Giftmenge eine Inkubationszeit von 10 Minuten bis zu mehreren

<sup>1)</sup> Bakt. Cbl. Bd. 29, 1901, Nr. 20. Vergl. auch Bd. 31, 1902, Nr. 1—2.

<sup>2)</sup> B. kl. W. 1899, Nr. 1 u. 22; 1900, Nr. 21 u. 31; 1901, Nr. 10, 21 u. 22. — Baumgarten, Die Hämolyse. Festschr. f. M. Jaffé. Braunschweig 1901.

<sup>3)</sup> H. Sachs, Hofmeisters Beiträge Bd. 2, 1902, p. 125.

<sup>4)</sup> R. Kobert, Beiträge zur Kenntnis der Giftspinnen. Stuttgart 1901.

<sup>5)</sup> Arch. intern. Pharmacod. 7, 1900, p. 1. — Markl, Ztschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 39, 1902, p. 86.

<sup>6)</sup> B. kl. W. 1898, Nr. 12.

<sup>7)</sup> Ztschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 32, 1899, p. 214.

Stunden erforderlich ist, um die Wirkung zu stande kommen zu lassen. Hat man so wenig Gift zugesetzt, dass es zur Auflösung nicht hinreicht, und trennt nach Verstreichen der Inkubationszeit Körperchen und Zwischenflüssigkeit, so findet man bei vielen unserer Gifte die Zwischenflüssigkeit giftfrei, die roten Blutkörperchen aber gifthaltig. Ehrlich drückt dies mit den Worten aus: „Die Blutkörperchen haben das Gift gebunden“; ich drücke mich allgemeiner aus, indem ich sage: „Das Gift vermag in die Blutkörperchen einzudringen.“ — Zum Schluss sei noch bemerkt, dass gegen einige hämolytische Gifte eine Immunisierung möglich ist. Dass hämolytische Gifte die elektrische Leitfähigkeit des Blutes vermehren, hat G. N. Stewart<sup>1)</sup> für Saponine nachgewiesen. Zum Schluss sei noch bemerkt, dass man genau genommen die Hämolyse in eine Erythrolyse und Leukolyse zerlegen muss.

c) Man stellt fest, ob das Gift die Resistenz der Blutkörperchen beeinflusst, d. h. ob es die Körperchen den zerstörenden Wirkungen physikalischer Kräfte schwerer oder leichter zugänglich macht. Hierher gehört Zusatz von destilliertem Wasser, Durchleiten starker elektrischer Ströme, Schütteln mit Quecksilber. Durch Zusatz von destilliertem Wasser aus einer engen Bürette zu einem abgemessenen Quantum des mit 3%iger Kochsalzlösung  $\bar{a}$  verdünnten Blutes will Bunge<sup>2)</sup> quantitativ die vermehrte oder verminderte Resistenz messen. C. Laker<sup>3)</sup> füllt das zu untersuchende Blut in Kapillaren von bestimmtem Querschnitt und bestimmter Länge und setzt es dann dem Entladungsstrom einer Leydener Flasche von bestimmter Grösse und Funkenschlagweite aus. Die Anzahl der Entladungen, welche nötig ist, um den gesamten Inhalt der Kapillare lackfarben zu machen, bildet dann das Mass der Resistenz. Weitere Angaben über diese pharmakologisch noch wenig ausgenutzte Blutuntersuchungsmethoden finden sich bei S. J. Meltzer und W. H. Welch<sup>4)</sup> sowie bei J. Bernstein<sup>5)</sup>. Durch Substanzen, welche das Protoplasma der roten Blutkörperchen fällen, also z. B. durch gewisse metallische und vegetabilische Adstringentien, sowie durch einzelne Salze, welche wasserentziehend wirken, wird die Resistenzfähigkeit der Blutkörperchen erhöht.

d) Man stellt fest, ob das Gift agglutinierend wirkt. Dass es überhaupt Gifte giebt, welche noch bei sehr starker Verdünnung Blutkörperchen im Reagenzglas unter den Augen des Experimentators durch Verklebung (Agglutination) in eine siegellackartige Masse umwandeln, ist zuerst von mir gefunden und durch meine Schüler H. Stillmark<sup>6)</sup>, Hellin<sup>7)</sup>, Elfstrand<sup>8)</sup> und C. Lau<sup>9)</sup> weiter untersucht worden. Mit der Bakterienagglutination ist die Hämagglutination durchaus nicht identisch. Dass auch gegen die Hämagglutination wie gegen die Hämolyse eine Immunisierung möglich ist, hat Ehrlich<sup>10)</sup> gefunden. Man muss vegetabilische, animalische und unorganische Agglutinine unterscheiden. Bei den vegetabilischen muss man zwei Unterabteilungen unterscheiden, nämlich solche, welche von Mikroben, und solche, welche von höheren Pflanzen erzeugt werden. Von Mikroben, welche ein Hämagglutinin bilden, nenne ich z. B. *Staphylococcus aureus* und *Vibrio proteus*. Zu den von höheren Pflanzen produzierten Hämagglutininen gehören Ricin, Abrin, Crocin, Robin. Animalische Hämagglutinine kommen im Blute des Menschen und der Säugetiere neben Hämolysinen normalerweise vor; ihre Menge und Wirksamkeit kann durch wiederholte Einspritzung fremdartigen Blutes sehr vermehrt werden (Landois, Bordet, Ehrlich und Morgenroth). Von unorganischen Stoffen wirkt kieselensaures

<sup>1)</sup> Journ. of Physiol. 24, 1899, p. 211; 26, 1901, p. 470; Journ. of exp. Med. 6, 1902, p. 257.

<sup>2)</sup> Eulenburg Realenc. Dritte Aufl. Bd. 3, p. 540.

<sup>3)</sup> Wiener med. Presse Jg. 31, 1890, Nr. 35.

<sup>4)</sup> Journ. of Physiology vol. 5, 1885, p. 255.

<sup>5)</sup> Tagebl. der Magdeburger Nat.-Forsch.-Vers., physiol. Sektion.

<sup>6)</sup> Arbeiten des pharmakol. Inst. zu Dorpat Bd. 3, 1889, p. 59.

<sup>7)</sup> Der giftige Eiweisskörper Abrin und seine Wirkung auf das Blut. Diss. Dorpat 1891.

<sup>8)</sup> Görbersdorfer Veröffentlichungen, hrsgbn. von R. Kobert, Bd. 1 (Stuttgart 1898) p. 1.

<sup>9)</sup> Ueber vegetabilische Blutagglutinine. Diss. Rostock 1901.

<sup>10)</sup> D. m. W. 1891, Nr. 44, p. 1218.

Natrium nach Siegfried<sup>1)</sup> bei Reagenzglasversuchen scheinbar agglutinierend. Die Agglutination durch vegetabilische und animalische Agglutinine geht auch an hämoglobinfreien roten Blutkörperchen, d. h. an den Stromata noch vor sich. Das dabei gebildete Produkt nannte Landois Stromafibrin; es hat jedoch mit dem echten Fibrin nichts zu thun, sondern ist ein Umwandlungsprodukt der hypothetischen Häutchen substanz, welche unter Einfluss der agglutinierenden Substanz und vielleicht unter Verbindung mit dieser entsteht. Eine Inkubationszeit ist auch hier wie bei der Hämolyse nötig. Das Serum und namentlich das Plasma einzelner Blutarten enthält reichlich ein Antiagglutinin. Nicht alle Agglutinine wirken auf alle Blutarten, sondern von den animalischen künstlich erzeugten die meisten nur auf eine einzige Blutart. Von den vegetabilischen ist besonders das Crotin bemerkenswert. Es wirkt auf das Blut von Rind, Schaf, Schwein, Hecht, Frosch agglutinierend; auf das von Hund, Meerschweinchen, Ratte, Huhn, Gans, Taube wirkt es so gut wie nicht, auf das des Kaninchens aber hämolytisch. Daraus ersieht man erstens, dass zwischen Hämolyse und Agglutination eine gewisse Beziehung besteht, die übrigens auch Ehrlich immer betont hat. Man ersieht zweitens daraus, dass man stets mit recht verschiedenen Blutarten Untersuchungen anstellen muss, wenn man über die agglutinierende Wirkung eines Giftes Aussagen machen will. Dass zwischen Hämolyse und Hämagglutination enge Beziehungen bestehen, geht auch daraus hervor, dass in den Kulturen z. B. von *Staphylococcus aureus* sich nach Kraus und Ludwig<sup>2)</sup> neben einem Hämagglutinin auch ein Hämolsin findet. Das Gleiche gilt nach S. Flexner und Hideyo Noguchi<sup>3)</sup> für das Gift der Schlangen. Ueber die feineren chemischen Vorgänge bei der Agglutination verweise ich auf Elfstrand (l. c.) und E. P. Pick<sup>4)</sup>.

e) Eine letzte Gruppe von Giften endlich löst weder die Blutkörperchen noch verklebt sie sie, noch verändert sie dieselben physikalisch, aber sie wandelt das Arterin derselben in Metarterin resp. Methämoglobin um. Das Prototyp dieser Substanzen ist das salzsaure Toluyldiamin. Beim Nitrobenzol tritt die Umwandlung nur im Brüteschrank ein. Die meisten anderen Methämoglobinbildner lösen entweder vorher die Blutkörperchen auf, oder sie wirken überhaupt erst auf den Blutfarbstoff ein, wenn die Blutkörperchen durch andere Einflüsse gelöst und deren Arterin dadurch in Oxyhämoglobin umgewandelt worden ist. Hierher gehört z. B. das Ferricyankalium. Weiteres über diese interessante Frage lese man bei P. Dittrich<sup>5)</sup> nach.

3. An dem vom Serum durch Zentrifugieren oder Absetzen befreiten **Brei von roten Blutkörperchen** kontrolliert man alle sub 2 gewonnenen Ergebnisse. Dieselben müssen bei dieser Versuchsreihe, da der störende Einfluss des Serums entfernt ist, noch schlagender ausfallen. Zum Schluss macht man unter allen Umständen noch eine Versuchsreihe an Amphibien-, Reptilien- und Vogelblutkörperchen, deren Stroma viel resistenter ist, und deren Kerne sich meist nicht mit auflösen.

4. An dem zum Zweck der vorigen Versuche abgehobenen **Serum** stellt man fest, ob das Gift damit Niederschläge bildet. Substanzen, welche dies thun, sind zur Einspritzung in das Gefässsystem ungeeignet.

5. An serumfreier **Blutkörperchenlösung**, die in parallelwandige, gleich grosse, wohl verschliessbare Fläschchen von 5—30 ccm Inhalt luftblasenfrei einzufüllen ist, stellt man im Brüteschranke fest,

a) ob die bei jedem sich selbst überlassenen Blute eintretende Reduktion, die am Dunklerwerden des hellroten Fläschchens und am Schwinden des Oxyhämoglobinspektrums und Auftreten des Hämoglobinspektrums leicht erkannt werden

<sup>1)</sup> Arch. intern. de Pharmacod. vol. 9, 1901, p. 225.

<sup>2)</sup> W. kl. W. 1902, Nr. 5.

<sup>3)</sup> Journ. of exp. Med. 6, 1902, p. 277.

<sup>4)</sup> Hofmeisters Beiträge Bd. 1, 1902, Heft 7—12.

<sup>5)</sup> Arch. exp. P. Bd. 29, 1892, p. 247; vergl. auch Bd. 26, 1890, p. 39.

kann, bei den Fläschchen mit Giftzusatz ebenso rasch eintritt als bei denen ohne diesen Zusatz. Es giebt nämlich Substanzen, welche die Umwandlung von Oxyhämoglobin in Hämoglobin beschleunigen, und solche, welche sie verlangsamen. Diese sogen. Sauerstoffzehrung im Blute beruht nach Maurice Doyon und Alb. Morel<sup>1)</sup> auf einem in den roten Blutkörperchen enthaltenen Enzyme, welches gleichzeitig Lecithine und Fette zersetzt und daher als eine Lipase anzusprechen ist.

b) ob statt Hämoglobin aus dem Oxyhämoglobin Zersetzungs- oder Umwandlungsprodukte wie Methämoglobin, Cyanhämoglobin, Kohlenoxydhämoglobin, Hämatin etc. entstehen. Man erkennt dieselben teils spektroskopisch, teils mit Hilfe chemischer Reaktionen (vergl. S. 97—104).

6. Es ist wünschenswert, die sub 5 a und 5 b besprochenen Versuche an Lösungen von reinem **krystallisiertem Hämoglobin** zu wiederholen, wo sie in demselben Sinne nur noch schlagender ausfallen müssen. Alsdann wandelt man einen Teil der O<sub>2</sub>Hb-Lösung durch eine Spur Ferricyankalium in **Methämoglobin** um und prüft, ob die zu prüfende Substanz etwa auf MetHb in Bezug auf Farbe oder Spektrum verändernd einwirkt, oder ob sie etwa gar eine Fällung des MetHb herbeiführt. Ich verweise betreffs dieser Umwandlungsprodukte auf die S. 97 gemachten Angaben. Als eine das MetHb nicht nur rot färbende, sondern gleichzeitig beim Schütteln fällende Substanz nenne ich z. B. Chloroform.

7. Zum Schluss kann man am Blute von **hämoglobinhaltigen, aber blutkörperchenlosen wirbellosen Tieren** die sub 1—3 besprochenen Versuche wiederholen. Ich werde über solche Tiere unten (S. 166—168) noch reden.

## IX. Versuche an isolierten gewaschenen Zellen parenchymatöser Organe.

Al. Schmidt<sup>2)</sup> hat mit einigen seiner Schüler eine schon längst bekannte Methode weiter ausgearbeitet, mit Hilfe deren man komplizierte Leistungen der Organe in aller Bequemlichkeit im Reagenzglas ohne Tierquälerei soll verfolgen können. Parenchymatöse Organe, wie Leber, Milz und Lymphdrüsen werden zu diesem Behufe geschabt und der dadurch erhaltene Zellenbrei durch Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung gereinigt. Dass die Zellen dabei alle intakt bleiben, ist nicht nötig; es wirkt vielmehr auch der durch Zerreiben derselben mittels Glaspulver erhaltene Detritus meist ebenfalls noch mit. Schmidt will auf diese Weise z. B. die Bildung von Gallensäuren, von Gallenfarbstoffen etc., sowie die Zerstörung und den Aufbau von Hämoglobin künstlich haben machen können. So oft ich mich auch bemüht habe,

<sup>1)</sup> Compt. rend. T. 134, 1902, p. 621.

<sup>2)</sup> Al. Schmidt, Ein Beitrag zur Physiologie der Leber. *Biolog. Cbl.* Jg. 10, 1890, Nr. 19—20. — A. Schwartz, Ueber die Wechselbeziehung zwischen Hämoglobin und Protoplasma. *Diss.* 1888. — E. Anthen, Ueber die Wirkung der Leberzelle auf das Hämoglobin. *Diss.* 1889. — B. Kallmeyer, Ueber die Entstehung der Gallensäuren und Beteiligung der Leberzellen bei diesem Prozess. *Diss.* 1889. — Nic. Hoffmann, Einige Beobachtungen betreffs der Funktion der Leber- und Milzzellen. *Diss.* 1890. — Nic. Höhle, Ueber die Einwirkung der Milzzellen auf das Hämoglobin. *Diss.* 1891. (Alle in Dorpat.)

diese Versuche nachzumachen, sind sie mir misslungen. Wohl aber sind eine Reihe anderer chemischer Umwandlungen mittels aseptischer frischer Organzellen, welche man in mit Toluol gesättigter 0,8%iger Kochsalzlösung bei 38° durchlüftet, sicherer ausführbar. Diese Versuche empfehle ich mit und ohne Zusatz der zu prüfenden Substanz anzustellen. Dabei ergibt sich erstens, ob diese Substanz etwa selbst durch die Zellen umgewandelt wird. Es ergibt sich dabei zweitens, ob die Substanz die gleich zu nennenden Einwirkungen auf andere chemische Stoffe beeinflusst.

1. Brei von frischen **Nierenzellen** des Hundes ist auf die Bildung von Hippursäure aus benzoesaurem Natrium und Glykokoll zu prüfen.

2. Brei von frischen **Leberzellen** verschiedener Tierklassen ist zu prüfen

a) auf Umwandlung von gelöster Stärke in Zucker,

b) auf Spaltung von Glykosiden,

c) auf Spaltung von Estern (z. B. von Salol),

d) auf Bildung gepaarter Schwefelsäuren (z. B. aus Phenolen),

e) auf Umwandlung von neutralen Ammonsalzen in Harnstoff,

f) auf Bildung von Methyltellurid aus tellursauren Salzen,

g) auf Bildung von Rhodannatrium aus Cyannatrium.

3. Brei von frischen **Pankreaszellen** ist zu prüfen auf fermentative Wirkungen auf Eiweisse, Fette und Stärkearten.

4. Brei von Zellen des **Hodens**, der **Prostata** und der **Dickdarmschleimhaut** ist nach Altenburg<sup>1)</sup> auf seine jodabspaltende Kraft auf Jodoform zu prüfen.

5. Brei **beliebiger Zellen**, aber ohne Kochsalzlösung und ohne Durchlüftung, ist auf seine reduzierende Kraft mit und ohne Zutritt von Sonnenlicht nach Quincke<sup>2)</sup> zu prüfen.

6. Brei von **pneumonisch infiltrierter Lunge** wird, falls er ohne Zusatz im Wärmeschrank aufgehoben wird, nach Fr. Müller durch Autolyse allmählich verflüssigt. Es ist zu prüfen, ob diese Verflüssigung durch das Gift behindert wird.

7. Brei von abgeschnittenen **Epithelinseln** der Oberhaut der Säugetiere und des Menschen halten sich nach Wentscher<sup>3)</sup> sehr lange lebend, ja sie vertragen sogar Abkühlung auf fast Null Grad. Man prüfe, inwieweit das zu untersuchende Mittel die Vitalität dieser Zellenaggregate schädigt.

## CC. Versuche an höherstehenden ganzen Pflanzen.

Die physiologisch-chemischen Forschungen der letzten Jahrzehnte haben dargethan, dass nicht nur ganz analoge Enzyme, wie sie bei Menschen und Tieren vorkommen, sich auch in der Pflanzenwelt finden, sondern dass auch die Abbauprodukte der Eiweissstoffe, Kohlehydrate und Fette mit den Aufbau- und Abbauprodukten, welche der Pflanzenorganismus erzeugt, auffallende Analogien bieten. Unter solchen Umständen muss es ein immer grösseres Interesse gewinnen, die Versuche, welche H. R. Göppert<sup>4)</sup> vor mehr als 70 Jahren angefangen hat, mit Hilfe exakter Methoden zu wiederholen und fortzusetzen. Der Gang derselben ist am besten folgender:

<sup>1)</sup> Arch. internat. Pharmacod. 8, 1901, p. 125.

<sup>2)</sup> Pflügers Arch. Bd. 57, 1895, p. 123.

<sup>3)</sup> Chir. Cbl. 1900, Nr. 1.

<sup>4)</sup> Ueber das Verhalten der Gifte zum Pflanzenorganismus. Habilitationsschrift. Breslau 1827.