

XXIV.

Weitere Untersuchungen über den Einfluss sterilisirter Luft auf Thiere.

Von

J. J. Kijanitzin,

Privatdocenten an der Universität zu Kiew (Russland).

(Hierzu Taf. XIV.)

„Die Geschichte der Medicin zeigt uns, dass wir in einer Epoche eines schweren und heftigen Kampfes im Interesse der wesentlichen Wahrheiten der Medicin leben. Unwillkürlich erinnert man sich an die vielen Kämpfe, welche von denen unserer Collegen geliefert wurden, die plötzlich irgend eine neue Beobachtung zu machen, ein neues Heilmittel zu entdecken oder irgend eine neue Mittheilung zu machen bestimmt waren. Wie viel Widersprüche, wie viel Spötereie erregte z. B. die Entdeckung der antifeberhaften Eigenschaften der Chinarinde! Wie viele Energie vergeudende Widerlegungen wurden verbreitet in der Absicht, der Vaccination ihre ganze Bedeutung zu nehmen! Wie viele von den medicinischen Facultäten unterstützte sogenannte Vertheidiger der Wahrheit behaupteten mit schäumendem Munde, die Circulation des Blutes sei unmöglich und die Lehre davon eine schädliche Albernheit! Sobald aber diese grosse Entdeckung angenommen wurde, hat man sich nicht die Mühe gegeben, zu beweisen, diese Wahrheit sei gar nicht neu!

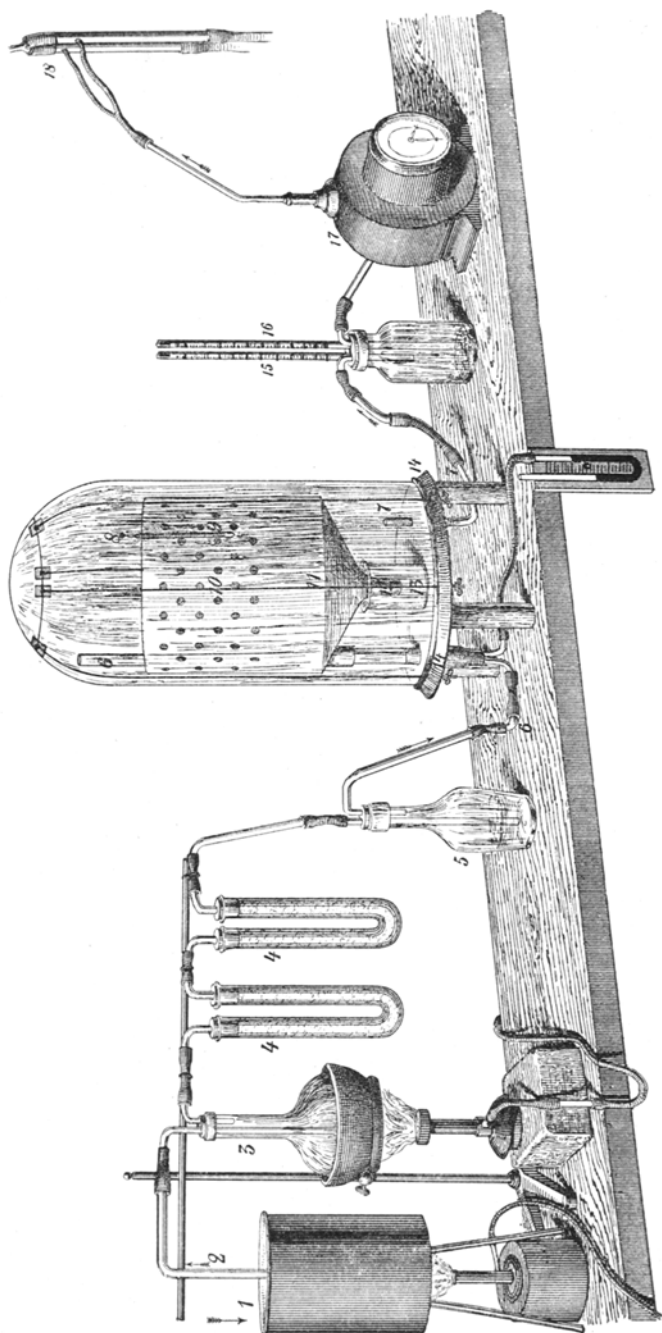
(Professor Skoritschenko-Ambodik.¹⁾)

Im Jahre 1894 habe ich eine Abhandlung herausgegeben unter dem Titel „Einfluss der sterilisirten Luft auf die Aufnahme und die Abscheidung, sowie auf die Ausscheidung der CO₂ bei Thieren“.²⁾

Die Hauptaufgabe dieses Werkes war die Bestimmung der Wirkung, welche eine grössere oder geringere Beschränkung des Zutritts der Bakterien der Luft, der Nahrung und des Wassers in den Darm auf die Aufnahme des N. der Nahrung ausübe.

¹⁾ Vrach, 1895, No. 40. Von dem Studium der Geschichte der Medicin.

²⁾ Vestnik, Bote der Hygiene, der gerichtl. und prakt. Medicin, 1894, Bd. XXII, und Archives de Biologie à Gand, XIII, 3, 1894.



Ein sehr interessantes Factum, zu dem ich vermittelst sehr complicirter und in technischer Hinsicht beschwerlicher Experimente gelangt bin, ist der Umstand, dass die Aufnahme des N. einiger Nahrungsmittel bei grösserer oder geringerer Beschränkung des Zutrittes der Bakterien der Luft, der Nahrung und des Wassers unfehlbar abnimmt. Ohne Ausnahme in allen Experimenten an Thieren (Kaninchen und Hunden) nahmen unter diesen Bedingungen die Ziffern der Aufnahme des in der Nahrung enthaltenen N. beträchtlich ab im Vergleich zu der N.-Aufnahme von Thieren im normalen Zustande. Es ist sehr wahrscheinlich, dass, wenn man die völlige Entfernung der Mikroorganismen erreichen könnte, welche vor Beginn der Experimente im Darne vorhanden waren, die Ziffern der N.-Aufnahme noch abnehmen würden. Auch ist es wahrscheinlich, dass die Ursache dieser Abnahme in dem Factum zu finden ist, dass einige Formen der niedrigen Organismen, da sie in demselben Sinne, wie einige Fermente der Verdauung auf das Albumen einwirken, bei der Verflüssigung und der Peptonisirung des Albumen der Nahrung mitwirken. Eine solche Erscheinung der Lebenswirksamkeit einiger Bakterien ausserhalb des Organismus ist eine der Haupt-Eigenschaften einiger Formen von Bakterien. Die Eigenschaft, das Albumen zu verflüssigen und zu peptonisiren, ist bei einigen Bakterien so beständig, dass man sogar versucht hat, diese Eigenschaft einer Bakterien-Classification zu Grunde zu legen (C. Fränkel, Grundlagen der Bakteriologie, 1888, S. 27).

Es ist nicht zu bezweifeln, dass viele Mikroben, die aus der Luft, der Nahrung und dem Wasser in den Darm eindringen, dort nicht untergehen, sondern ihre Lebenswirksamkeit fortführen, wie man schliessen darf, wenn man sich auf die unermessliche Quantität der chemischen Producte der Lebenswirksamkeit der Bakterien stützt. (Phenol, Indol, aromatische Säuren, ferner Alcohol, Milchsäure, Buttersäure, CO_2 , SH_2 , Kohlensäure, giftige und nicht giftige Ptomaine u. s. w.) Indem wir den Zutritt der Mikroben in den Darm völlig verhindern oder beträchtlich einschränken, beschränken wir sowohl die Chemie der Verdauung, als auch die für den ganzen Körper nützliche Function des Darmes, d. h. die Abscheidung des N. aus dem Albumen der Nahrung.

Nachdem ich die Abhandlung, von der ich eben gesprochen habe, herausgegeben hatte, hat man mir eingewendet, dass, ungeachtet der vollkommenen Genauigkeit meiner Experimente, man daraus doch nicht schliessen könne, dass die Quantität der Bakterien des Darmes wirklich vermindert gewesen sei, weil die in dem Darm bereits vorhandenen sich schnell zu der gewöhnlichen Anzahl vermehrt haben könnten. Da ich so viele Experimente über die Aufnahme des N. der Nahrung und die Bestimmung des N. des Urins (nach der Methode Kjeldal's) zu machen hatte, so konnte ich nicht zugleich den Inhalt des Darmes bakteriologisch untersuchen. Solche Analysen sind aber seit langer Zeit vorhanden.

Die Frage nach der Quantität der Bakterien im Darm bei Ernährung mit sterilisirten und mit nichtsterilisirten Nahrungstoffen ist schon von Prof. Sucksdorff¹⁾ untersucht worden an der Hand von Experimenten an einem Manne, den er erst mit gewöhnlichen und später mit sterilisirten Nahrungstoffen genährt hatte. Da er die Zahl der Bakterien-Colonien auf MPG bestimmte, gab 0,001 gr des Auswurfs folgende Colonien:

Bei gewöhnlicher Nahrung:	Bei sterilisirter Nahrung:
Minim. 25 000	Minim. 53
Maxim. 2 300 000	Maxim. 15 000

In meinen Experimenten waren diese Ziffern ohne Zweifel noch vermindert, indem das Thier nicht nur sterilisirte Nahrung und Wasser zu sich nahm, sondern auch in eine möglichst sterilisirte Luft gesetzt worden war.

Die zweite Folgerung, die ich auf Grund meiner früheren Experimente gezogen habe, ist die, dass das Thier, obgleich unter denselben Bedingungen, was den Organismus betrifft, befindlich und in derselben Umgebung, bei sterilisirter Luft viel mehr Gewicht verliert und dass dabei die Ausscheidung des N. im Urin zunimmt.²⁾

Bei meinen Experimenten (in den Jahren 1893 und 1894) machte ich die unerwartete Entdeckung eines höchst auffallenden

¹⁾ Arch. f. Hygiene, B. IV, 1886.

²⁾ Die von mir in früheren Experimenten gemachten Bestimmungen der vom Thiere ausgeschiedenen Kohlensäure zeigten einen Zuwachs (in einigen Experimenten einen ganz unbedeutenden).

und interessanten Factums. Es war dies die Beobachtung, dass in den meisten meiner Experimente (2, 4, 8, 10 u. 12), die ich an genährten und an hungernden Thieren machte, um die Verschiedenheit des Stickstoff-Gehaltes im Urin bei sterilisirter Luft zu bestimmen (Untersuchungen 18, 20, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 40), die Versuchs-Thiere, — Kaninchen, Hunde, Meerschweinchen —, umkamen, und zwar entweder während des Experiments oder $1\frac{1}{2}$ —5 Tage, nachdem sie in den Apparat gesetzt, oder 10 Minuten bis $1\frac{1}{2}$ Stunden, nachdem sie aus dem Apparat genommen worden waren. In den übrigen Experimenten mit sterilisirter Luft (Untersuchungen 6, 14, 16, 22, 38) blieben die Thiere lebendig, zeigten aber eine ausserordentliche Müdigkeit, äusserste Schwäche und ausserordentliche Schläfrigkeit; sie hielten sich kaum aufrecht, und auf äussere Reize gaben sie beinahe kein Zeichen von sich. In der Absicht, die Ursache dieses biologisch höchst interessanten Factums genauer zu analysiren, eines Factums, welches, wie man sieht, nicht durch ein oder zwei Experimente, sondern durch eine ganze Reihe davon bezeugt wurde, richtete ich die letzte Reihe der Experimente (29—40) auf das Ziel, die Ursache des Todes der Thiere unter den angewendeten Bedingungen zu ergründen.¹⁾ Es schien mir unmöglich, den Tod der Thiere durch Hunger oder Erschöpfung zu erklären: erstens, weil die Thiere sogar während der Experimente, wo sie mit Nahrung und Wasser versehen wurden, umkamen, zweitens, weil der durch Hunger verursachte Tod viel später eintritt, für Meerschweinchen nach etwa 7 Tagen, für Kaninchen nach wenigstens 10 Tagen, und für Hunde nach etwa 3 Wochen. Ausserdem erreicht der Verlust an Gewicht beim Hungertode im Durchschnitt nach den Experimenten Chossat's, Manassein's u. A.²⁾ etwa 40 bis 45 pCt., in meinen Experimenten aber ging der Verlust nicht über 23,67 pCt.

Es schien mir ebenso unmöglich, diesen schnellen Tod dem Oxygen-Mangel oder einer Vergiftung durch irgend einen von den

¹⁾ Meine erste Voraussetzung war, dass das Abwaschen des Thieres mit Sublimat (1:500) etwas damit zu thun haben könne; aber das mehrmalige Abwaschen mit einer solchen Solution von Sublimat und nachfolgendes Abwaschen mit Wasser, und sogar ohne letzteres, hatte keinen schädlichen Einfluss auf die Thiere.

²⁾ V. Paschutin's Vorlesungen über allg. Pathologie, 2. Bd.

Thieren ausgehauchten Stoff zuzuschreiben (Brown-Séguard u. d'Arsonvil, Dastre u. Loyé, Lehmann u. Jessen, Merkel u. s. w.). In der That war die Ventilation des Apparates vollkommen genügend (Erneuerung der Luft alle 20—25 Minuten), überdies müssten, wenn dies die Ursache gewesen wäre, die Thiere auch bei den unter normalen Umständen gemachten Experimenten umgekommen sein; das geschah aber nie. Die Temperatur des Apparates stieg nie über $32,8^{\circ}$ C. während der Sommermonate und nie über 21° während der Wintermonate. Die Feuchtigkeit der Luft im Apparat erreichte nie ihre Sättigung mit Wasserdunst. Die Untersuchung der Luft des Apparates auf NH_3 ergab nur sehr kleine Quantitäten davon, weil der mit Borsäure gemischte Urin sich nicht zersetzte.

Nur eine Hypothese blieb übrig, nemlich, dass bei ihrem Durchgang durch den auf 300° C. erhitzten Sand die Luft giftige Eigenschaften bekommen hätte. Das Oxygen, das N. und die Wasserdünste konnten solche Eigenschaften nicht erlangt haben, aber, wie bekannt, wird CO_2 bei ihrem Durchgang durch erhitzte Metalle in CO zerlegt. Da ich die Möglichkeit der Verwandlung der CO_2 in CO bei dem Durchgange der Luft durch den erhitzten Sand zugab, habe ich in der letzten Reihe meiner Experimente das Blut der todten Thiere einer Analyse unterworfen; um CO zu entdecken, habe ich vom Spektroskope und von der Reaction Hoppe-Seyler's und Kuniyosi-Katayama's Gebrauch gemacht: in allen Fällen war der Erfolg verneinend. Ausserdem habe ich durch verdünntes Blut 300—500 Liter Luft durchgelassen, welche erst durch erhitzten Sand und Watte filtrirt worden war. Ich suchte dann CO im Blute: die Erfolge waren verneinend. Ausserdem reinigte ich in dem letzten Experimente die Luft von CO_2 und organischen Stoffen, ehe ich dieselbe in den Sandballon einliess: die Resultate waren dieselben.

So ist es mir also nur gelungen, die Thatsache des Todes der Thiere unter den angegebenen Bedingungen der Experimente festzustellen; da ich diese Frage für sehr schwerwiegend und die Zahl meiner Experimente für allzu beschränkt hielt, um daraus einen zuverlässigen Schluss zu ziehen in Betreff der räthselhaften Ursache des Todes der Thiere, hütete ich mich in meiner früher erschienenen Abhandlung vor jeder Hypothese.

Vermuthungen über die Ursachen des Todes drängten sich aber von selbst auf. In der That, die Verschiedenheit in der von den Thieren unter den angegebenen Umständen eingeathmeten Luft bestand einzig darin, dass die Mikroben, wie überhaupt alles organische Leben, durch die hohe Temperatur der sterilisirten Luft getödtet worden waren.

Es schien möglich, zu vermuthen, dass unter normalen Bedingungen irgend welche Mikroben der Luft beim Eindringen in das Blut im Momente des Gaswechsels der Lungen von den Leukocyten verschlungen wurden (deswegen findet man gewöhnlich keine Mikroben im normalen Blute), und dann, von diesen so zu sagen verdaut, als Material zur Bildung normaler Fermente des Blutes dienten; anders ausgedrückt, einige von den Leukocyten verschlungene Mikroben der Luft konnten einen Einfluss auf die fermentativen und nutritiven Functionen des Blutes und der Gewebe des Körpers haben, einen so unerlässlichen und wichtigen Einfluss, dass die Thiere in dieser künstlich gebildeten Luft schneller oder langsamer umkamen, je nach der mehr oder weniger vollkommenen Sterilisation der Luft.

Vieles rechtfertigt schon a priori diese Hypothese: 1. Etliche der normalen Fermente des Blutes sind beinahe ausschliesslich in den Leukocyten enthalten: 2. In pathologischen Zuständen ist es namentlich der Fall, dass einige pathogene Mikroben, da sie von den Leukocyten verschlungen und verdaut werden, zur Bildung von Stoffen beitragen, welche den Charakter der Fermente besitzen; unzweifelhaft ist dies eine der wichtigsten Functionen der Leukocyten in pathologischen Fällen.

Das Dasein solcher Zellen und die Bildung von Vorrichtungen im Organismus, welche diesem nur zu pathologischen Zwecken nothwendig, bei normalen Zuständen aber unnütz sind, ist mir unbegreiflich, da die Anwesenheit pathogener Mikroben in unserer Umgebung nicht beständig, sondern zufällig ist. Wenigstens sind wir bis jetzt gewöhnt, zu glauben, dass in der Natur für die Ausbildung irgend welcher Vorrichtungen des Organismus gegen schädliche Einflüsse unserer Umgebung eine grössere oder geringere Beständigkeit dieses Einflusses auf den Organismus nothwendig sei.

3. Die nicht pathogenen Mikroben sind weit davon entfernt, müssig zu bleiben; im Gegentheil, sie üben unter gewissen Be-

dingungen einen unermesslichen Einfluss auf unsere Gewebe und meistens auf die weissen Blutkörperchen aus; die Affinität dieser letzteren zu den pathogenen und nicht pathogenen Mikroben und ihr Trieb zu denselben ist gleichfalls ungeheuer stark. Dieses ist schon längst von den Chirurgen bewiesen worden, denn, wenn wir uns bemühen, bei Operationen Reinlichkeit zu beobachten, und wenn wir aseptische und antiseptische Verbände anlegen, so haben wir die Absicht, das entblösste Gewebe des Körpers nicht nur vor pathogenen Mikroben (Erysipelas, Diphtheria u. s. w.), sondern auch vor den augenscheinlich unschädlichen Saprophyten zu beschützen, die in der Luft schweben, an den Händen, an den zum Verbinden dienenden Gegenständen, an den Instrumenten und Anderem kleben. Hier kommen uns die Phagocyten zu Hülfe, indem sie die pathogenen sowohl, als die pathogenen Mikroben verzehren.

4. Die Thatsache, dass bei Experimenten in sterilisirter Luft die Versuchs-Thiere nicht nur in dem Apparat, sondern häufig 10 Minuten bis $1\frac{1}{2}$ Stunden, nachdem sie aus dem Apparat genommen worden waren, starben, bedeutet augenscheinlich irgend welche tiefgreifende Störung der Ernährung und des Stoffwechsels im Organismus. Denn hier hatte man es nicht zu thun mit einem ungenügenden oder anomalen Gaswechsel des Blutes, noch mit Erschöpfung wegen mangelhafter Nahrung, denn das Thier bekam Futter und Wasser, sobald es aus dem Apparat genommen wurde; bei den Experimenten über den Eintritt des Hungertodes bei Thieren (Manasséin, Chossat) konnte das Thier sogar gerettet werden, wenn man ihm im letzten Momente vor dem Tode Nahrung gab; es geschah sogar dann, wenn der Verlust an Gewicht beinahe 40—50 pCt. des anfänglichen Gewichtes erreichte (V. Paschutin, Vorlesungen über allgem. Pathologie, 2. Bd., S. 55).

Die vorliegende Arbeit habe ich unternommen in der Absicht, möglichst eingehend die Veränderung des Stickstoff-Stoffwechsels bei Experimenten in sterilisirter Luft zu untersuchen, und damit den ausgedrückten Vermuthungen eine wissenschaftliche Stütze und auf genaue chemische Analyse gegründete Beweise zu geben.

Nach dem eben Gesagten hing das Wesentliche dieser Ver-

änderung augenscheinlich von der unterbrochenen und ungenügenden Vorbereitung irgend welcher Fermente des Blutes ab.

Die Frage nach den Fermenten des Blutes ist eine der wichtigsten, interessantesten, aber zugleich schwersten Fragen der biologischen Chemie.

Wir sind leider noch weit davon, diese Fermente isoliren und ihre Wirkungen auf den Organismus studiren zu können. Dies ist eine Aufgabe der Zukunft. Bis jetzt können wir, auf Grund einiger Angaben der Physiologie und besonders der Infections-Pathologie, nur einige davon errathen und erkennen, dass ihre Existenz wahrscheinlich und nothwendig ist.

Schon Claude Bernard hat oft auf das Dasein und die ungeheure Bedeutung der im Organismus sich bildenden Fermentation hingewiesen, um die functionellen und die Ernährungs-Erscheinungen des Organismus zu erklären. Nach seiner Meinung liegen den Erscheinungen im Organismus ganz dieselben chemischen Processe zu Grunde, die ausserhalb der lebenden Geschöpfe entstehen; nur werden sie von speciellen Agentien ausgeübt. Diese Agentien sind lösliche Fermente; sie haben einen Antheil an allen Oxydationen und an allen wässerigen Combinationen der Elemente des Organismus. Ihre Rolle in allen Lebens-Erscheinungen ist im höchsten Grade wichtig. Sie bilden eben das Besondere in dem Verfahren der lebenden Natur; denn das Wesentliche der Erscheinungen, sowohl in der organischen, wie in der unorganischen Natur, ist dasselbe. Man kann sagen, ohne allzu verwegen zu sein, dass die Fermente das Geheimniss des Lebens in sich bergen. Diese löslichen, unorganisirten, nicht krystallisirten Elemente besitzen eine merkwürdige Eigenschaft: nemlich die, durch kleine Quantitäten ungeheure Erfolge zu erzeugen¹⁾.

Eine ganze Reihe von jetzt lebenden ausgezeichneten Gelehrten mit Namen, die in der Wissenschaft berühmt sind, erkennt an, dass die Processe der Oxydation in unserem Organismus nicht so einfach sind, als man gewöhnlich annimmt, und dass diese Processe gar nicht ausschliesslich auf Rechnung des Oxygens der Luft zu setzen sind, wie man es vermuthet. Im

¹⁾ Claude Bernard, Von den Verhältnissen der functionellen und der Ernährungs-Erscheinungen. Russische Ausgabe, S. 14.

Gegentheil, nach der Berechnung Armand Gautier's, auf Grund der bekannten Analysen von Voit und Pettenkofer, geschieht die Oxydation im Organismus theils ($\frac{4}{7}$) durch das Oxygen der Luft, theils ($\frac{1}{7}$) durch das Oxygen der Gewebe. Die Forschungen Ehrlich's, Salkowski's, Hoppe-Seyler's und Nencky's beweisen auch, dass der Organismus noch eine besondere Quelle des Oxygens in sich selbst besitzt, abgesehen von dem Oxygen der ihn umgebenden Atmosphäre. Armand Gautier sagt, indem er sich auf experimentelle Angaben stützt, dass das Protoplasma der meisten Zellen des Organismus wesentlich ein wiederherstellendes Mittel darstellt, welches baut, abscheidet und specifische Producte erzeugt ohne Theilnahme des Organismus, und dass nur in der letzten Phase, die wesentlich auflösend ist und eine sichtbare Energie zeigt, das Oxygen zur Zerstörung der Producte beiträgt, welche während der ersten, der anaeroben, Phase gebildet waren. Dieses, von dem berühmten Biologen Armand Gautier zuerst festgestellte Factum (dass der wirklich wirkende und lebendige Theil unserer Zellen, der Nucleus und das Protoplasma, ohne Zutritt des Oxygens gleich anaeroben Mikroben wirkt, und dass nur zum zweiten Mal, ausserhalb der Zellen und auf Rechnung ihrer Producte, im Organismus die Processe der Verbrennung, der Oxydation, geschehen) bietet ein tiefes wissenschaftliches Interesse. Diese im Blute und in der Peripherie der Zellen geschehenden Processe der Oxydation sind nicht so einfach, als es auf den ersten Blick scheint¹⁾.

Nach den Forschungen desselben Armand Gautier scheidet sich das Oxygen der Gewebe von den in Betracht kommenden Combinationen ab vermittelt der sogenannten Gewebe-Athmung, unter dem Einfluss eines besonderen chemischen Ferments. Die Existenz eines solchen Ferments wurde schon von dem verstorbenen Traube vermuthet. Nach ihm wurde von Schmiedeberg in den Geweben ein Körper gefunden, welcher oxydirende Eigenschaften besass und von ihm Histosime genannt wurde²⁾.

¹⁾ Armand Gautier, Chemie der lebenden Zellen. Zeitschrift der med. Chemie, December 1894, S. 395.

²⁾ Prof. Poehl, Analyse des Urins. Zeitschrift der med. Chemie, Mai 1896, S. 579.

Auf Grund des eben Gesagten sieht man, dass irgend welche noch nicht ganz erforschten Fermente auch für die Oxydations-Processen im Organismus unumgänglich nöthig sind.

In diesem wissenschaftlichen Factum habe ich einen Weg gefunden, um mich der Aufklärung der Frage über die Ursache des Todes der Thiere in sterilisirter Luft zu nähern.

Ich habe mir die Aufgabe gestellt, zu bestimmen, ob eine etwaige Verschiedenheit der Quantität zwischen den schliesslichen und den intermediären Producten der Oxydation der N-Stoffe des Organismus bei Thieren unter normalen Verhältnissen und solchen in sterilisirter Luft existirt. Um hier den Einfluss der Nahrung auszuschalten, machte ich die Experimente mit hungernden Thieren (ohne Wasser). Das Thier wurde 24 Stunden ohne Nahrung gelassen. In dem Urin von mehreren Tagen (der mit einer gesättigten Lösung von Borsäure versetzt wurde, um der Zerlegung des Urins vorzubeugen, was unbedingt nothwendig war, da die Experimente 3—6 Tagen dauerten), bestimmte ich: 1. die Quantität des gesammten N. während des Experimentes nach der Methode Kjeldahl's; 2. die Quantität des gesammten Harnstoffes nach der Methode Prof. Borodine's als Product der schliesslichen Oxydation (mit vorläufiger Abtheilung der Leukomaine) und 3. die Quantität der Leukomaine (nach der Methode Poehl's) als Product der unvollkommenen intermediären Oxydation des Albumens.

Der Unterschied in der Quantität dieser Producte bei Thieren in normalen Zuständen und bei Thieren in sterilisirter Luft erwies sich, wie wir sogleich sehen werden, als ungeheuer gross.

Wie in meinen früheren Experimenten bei sterilisirter Luft, so gelang es mir auch jetzt, den Zuwachs der gesammten Stickstoff-Ausscheidung im Urin im Vergleich zu der bei normalen Thieren zu constatiren; aber das Hauptsächliche ist, dass dieser Zuwachs durch einen ungeheuren Gehalt an Producten der unvollkommenen Oxydation erzeugt wird, durch Leukomaine, deren Quantität die Norm mehrmals übertrifft; die Quantität des Harnstoffes nahm dagegen verhältnissmässig ab. So war bei normalen Thieren das Verhältniss des gesammten N. des Urins zum N. des Harnstoffes wie 100:90—100:89; dagegen bei den in sterilisirter

Luft lebenden Thieren war dieses Verhältniss sehr verändert, denn es gab 100:55 und weniger. Dieses im höchsten Grade interessante Factum, zu dem ich gelangt bin, dass die Quantität der intermediären und unvollkommenen Producte der Oxydation des Albumens — d. h. der Leukomaine — mehrmals die Norm übertrifft, ist eine im höchsten Grade beständige Erscheinung, die ich ohne Ausnahme in allen Experimenten an sterilisirte Luft athmenden Thieren festgestellt habe.

Da die Untersuchungen des N-Stoffwechsels bei Thieren in normalen Verhältnissen und solchen in sterilisirter Luft von mir unter gleichen Bedingungen ausgeführt wurden (die Temperatur bildete einen kleinen Unterschied von 3 bis 5 ° C in Folge des Durchganges der Luft durch den erhitzten Sand und die nicht ganz genügende Kühlung derselben bei dem Eintritt in den Apparat, auch in Folge des barometrischen Druckes, der bei den Experimenten in sterilisirter Luft 20 bis 30 mm niedriger war, als bei normaler Luft, weil der Sand und die Watte für den Eintritt der Luft in den Apparat ein Hinderniss bilden), so kann man solch' eine beträchtliche Verschiedenheit im N-Stoffwechsel bei den Thieren nicht anders erklären, als durch den Umstand, dass die Aufhebung oder wenigstens die sehr beträchtliche Beschränkung des Zutritts irgend welcher Mikroorganismen aus der Luft das Blut und die Gewebe der Thiere eines normalen oxydirenden Fermentes beraubte, was eine auffallende Störung des N-Stoffwechsels hervorbrachte, eine Störung, welche sich durch ungeheure Anhäufung der unvollkommen oxydirten und intermediären Producte, wie es die Leukomaine sind, offenbarte. Jedoch da die Störung des normalen Stoffwechsels, die nicht nur in der Qualität, sondern auch in der Quantität besteht, immer von Symptomen der Autointoxication begleitet wird, so muss man unumgänglich die Ursache des Todes der Thiere unter den angegebenen Bedingungen in deren Vergiftung durch eine ungeheure Quantität von Leukomainen sehen. Dieser Schlussfolge entsprechen vollkommen auch die Symptome, die ich bei den Thieren beobachtete: ausserordentliche Schwäche, Schläfrigkeit, Unmöglichkeit sich aufrecht zu halten, und, bei denen, die unter meinen Augen starben, die Erweiterung des Augapfels und die Krämpfe in den Gliedern.

Deswegen und auf Grund der von mir 1893/1894 und jetzt gemachten Experimente über den Einfluss der sterilisirten Luft auf die Thiere behaupte ich, dass ausser dem Oxygen der Luft für das Leben und den normalen Stoffwechsel noch irgend welche Mikroorganismen der Luft nothwendig sind, Mikroorganismen, die bei dem Gaswechsel in das Blut eindringen, von den Leukocyten verzehrt werden (weswegen sie auch im normalen Blute nicht gefunden werden), dann, nachdem sie von ihnen verdaut worden sind, Veranlassung zur Bildung eines oxydirenden Ferments werden, ohne welches die normalen Processe der Oxydation im Organismus schnell abnehmen und durch die Bildung und Anhäufung einer grossen Quantität unvollkommener intermediärer Producte des Stoffwechsels, d. h. von Leukomainen, ersetzt werden, was den Tod des Thieres herbeiführt.

Die von mir entdeckten Eacta bieten unstreitig ein ungeheuer grosses Interesse für Biologie und biologische Chemie.

Schon Armand Gautier, in seiner „Chemie der lebenden Zelle“, äusserte die Vermuthung der Möglichkeit der Zerstörung (Oxydation) der Leukomaine in dem peripherischen Theile der Zellen, wobei, nach seiner Meinung, dies unter dem Einfluss eines oxydirenden Ferments geschieht. S. S. Botkin ist zu dem Schlusse gekommen, dass der Zerfall der weissen Blutkörperchen (Leukolyse) als ein Hauptfactor bei der Zerstörung der im Organismus gebildeten Toxine erscheint. G. Bunge drückt auch die Vermuthung aus, dass eben den weissen Blutkörperchen die Aufgabe zufällt, die schädlichen Materien unschädlich zu machen¹⁾.

Die von mir angeführten Experimente geben diesen Vermuthungen eine Stütze. Indem wir den weissen Blutkörperchen die Rolle von Erziehern und Reglern der Oxydationen im Organismus unter dem Einflusse von Bakterien zuerkennen, werden wir keinem Widerspruche begegnen, im Gegentheil werden wir auf diese Rolle auch bei einigen pathologischen

¹⁾ A. Poehl, Zeitschrift der medic. Chemie 1896. Mai S. 620. (Russische Ausgabe).

Verhältnissen etwas Licht fallen lassen. Bei der Leukocytose, in Folge des Eindringens pathogener Mikroben in das Blut, strebt die heilende Kraft der Natur nicht nur diese Mikroben zu verzehren, zu vernichten, sondern, indem sie die Quantität der Oxydations-Fermente entsprechend der Vermehrung der Leukocyten steigert, trägt sie augenscheinlich zu einer schnellen Oxydation und zu der Verwandlung anomaler giftiger Producte des Stoffwechsels in vergleichsweise unschädliche bei, wie z. B. in Harnstoff, der sich in solchen Fällen so schnell vermehrt.

Die Bedingungen und Umstände meiner Experimente waren dieselben, die ich in meiner ersten Abhandlung über diese Frage beschrieben habe, mit dem einzigen Unterschiede, dass ich zur Luft-Sterilisation die Luft erst durch einen eisernen, zur Hälfte mit grobem Sande gefüllten Cylinder (Taf. XIV Fig. 1), und dann durch einen zur Hälfte mit solchem Sande gefüllten und in einen Sandbad gestellten Kolben einliess (zur Vermeidung des Zerplatzens des Kolbens). Das Luftrohr erreichte den Boden des Cylinders; das in den Kolben hineingehende Rohr endigte an dem Kautschuk-Pfropfen; das herausgehende nahm seinen Anfang gleich an dem Boden des Kolbens. Auf diese Weise ging die Luft zweimal durch eine Schicht erhitzten Sandes von 15—20 cm Dicke.

Sowohl der Cylinder, als der Kolben wurden fortwährend glühend erhitzt auf einem Gasapparat mit 3 oder 4 Brennern. Das mehrmaligen Messen der Temperatur des Sandes zeigte, dass er in den oberen Schichten zu einer Temperatur von 210—280° C. erhitzt worden war, unten aber bis zu 360° C. und mehr. Weiter ging die Luft durch zwei grosse V-formige Röhren, die mit sterilisirter hygroskopischer Watte dicht angefüllt waren, mit dem Zwecke, den Zug der Luft zu verzögern, um ihr Zeit zur Kühlung zu geben. Zu dem Zwecke aber, die Luft zu sterilisiren, sind solche mit Watte gefüllten Röhren wenig tauglich, denn bei der Schnelligkeit des Luftzuges (2 Liter per Minute), der durch ein Glasgefäss mit sterilisirter, peptonisirter Fleischbrühe ging, fing, nach 2—3 Tagen, die Fleischbrühe an zu faulen.

Um zu controliren, ob die Bakterien der Luft durch die hohe Temperatur wirklich getödtet wurden, kann die Luft gleich

bei ihrem Eingang in den Apparat durch eine dünne, peptonisirte Fleischbrühe gehen. Peptonisirte Fleischgelatine zu gebrauchen, wie ich es vormals that, da ich mich eines verborgenen, auf der inneren Fläche mit M. P.-Gelatine bedeckten Gasrohrs bediente, ist nicht ganz bequem. Der Apparat, in welchen das Thier gesetzt wurde, wurde auch so viel wie möglich sterilisirt. Die metallischen Theile von hoher Temperatur und die Glasglocke wurden mit einer Auflösung von Sublimat (1 : 500) und nachher mit einigen Litern sterilisirten Wassers abgewaschen. Der Urin des Thieres wurde in ein Glasgefäß gesammelt, in welches, zur Vermeidung der Entwicklung von Bakterien und der Zersetzung des Urins, 20—40 ccm gesättigter Borsäure-Lösung hinzugefügt wurden (Sublimat ist zu diesem Zwecke untauglich, da es einige Bestandtheile des Urins präcipitirt). Auf den Boden des Apparats goss ich auch eine Schicht von 1—2 ccm gesättigter Borsäure-Lösung. Die Excremente des Thieres wurden zwischen Drahtnetzen gesammelt: einem oberen mit breiten Maschen und einem unteren schmalmaschigen ganz am Ende des zinnernen Trichters; auf solche Weise sonderte sich der Urin von den Excrementen ab, und diese letzteren sammelten sich zwischen den Netzen an. Da sie feucht blieben, so gaben sie fast keine Mikroben ab oder wenn sie auch welche abgaben, so waren es nur ganz unbedeutende Quantitäten, die keinen Einfluss auf die Richtigkeit meiner Experimente haben konnten, da das Ziel meiner Forschungen die Veränderung des N-Stoffwechsels bei Thieren unter Abschluss der Bakterien der Luft war, nicht aber unter Abschluss der Bakterien des Darms, der vielleicht nie ganz vollkommen sterilisirt werden kann.

Die Glasglocke, welche das Thier enthielt, wurde durch 4 Schrauben und einen kupfernen Draht hermetisch an den Kautschuck-Ring gepresst, welcher sich in der Rinne, im Boden des Zink-Untersatzes befand. Die hermetische Sperrung des Apparats war selbstverständlich unbedingt nothwendig, weswegen sie fortwährend vermittelt eines Quecksilber-Manometers und durch Eingiessen von Borsäure in die Rinne, in welche die Glasglocke eingesetzt worden war, controlirt wurde: bei dem kleinsten Mangel in der Dichtigkeit des Verschlusses strömte die gewöhnliche Luft pfeifend in den Apparat in Gestalt

kleiner Blasen ein. Zur Messung der Temperatur im Apparat war in der inneren Wand desselben ein kleines Thermometer befestigt. Bei Experimenten in sterilisirter Luft ging die Temperatur nicht über 26° C., ($21,8^{\circ}$ R. bei $18-10^{\circ}$ C. Zimmer-Temperatur). Zur Messung der relativen Feuchtigkeit des Apparates befand sich nebenbei ein breithalsiges Gefäss. Durch den Pfropfen desselben gingen zwei Thermometer, ein feuchtes und ein trockenes, mit einer Graduierung von $\frac{1}{10}$ pCt. Die relative Feuchtigkeit der Luft des Apparats schwankte zwischen 92—98 pCt. in Folge der Temperatur und der Schnelligkeit des Wechsels der Luft im Apparat.

Die Ventilation des Apparats geschah mittelst zweier Luft- und Wasserpumpen (nach dem Systeme von Professor V. Paschutin (Vratch 1886. No. 18); die Geschwindigkeit des Luftzuges war 1—2 Liter per Minute, so dass, bei 50 Liter Ballon-Inhalt, die Luft alle 25—50 Minuten erneuert war. Wie ich mich überzeugt habe, war es unmöglich, eine grössere Ventilations-Geschwindigkeit zu erreichen, da bei der angegebenen Anordnung meiner Experimente die Luft nicht ganz sterilisirt worden wäre (die peptonisirte Fleischbrühe wurde trübe). Eine schnellere Ventilation war sogar unnöthig, denn bei der täglich mehrmaligen Zählung der Athemzüge der Versuchsthiere fand ich 33 bis 80 Athemzüge (Kaninchen im normalen Zustande athmen 60 bis 80mal per Minute). Die Quantität der Luft, welche den Apparat durchzog, wurde mittelst einer Gasuhr gemessen. In meinen letzten Experimenten, unter normalen Bedingungen, habe ich mit Absicht die Geschwindigkeit der Ventilation in meinem Apparat auf $\frac{1}{2}$ Liter per Minute herabgesetzt, wobei das Thier 6 Tage darin lebte, ohne irgend welche Abweichung von der Regel im Allgemeinen oder in der Zusammensetzung des Urins im Einzelnen zu zeigen. Die Zählung der Athemzüge des Thieres ergab 34—80 per Minute.

Die Methoden der Analyse, die ich anwendete, waren folgende: Der gesammte N. des Urins wurde nach der Methode von Kjeldahl bestimmt, der N. des Harnstoffes nach dem Verfahren von Prof. Borodine, mit vorläufiger Abtrennung der Leukomajne durch Salzsäure unter Zusatz von Wolfram-Phosphorsäure, die nach der Methode Scheibler's angefertigt

No. der Experimente	Die Bedingungen des Experiments	Dauer des Experiments	Gewicht des Thieres vor u. nach dem Experiment	Mittel-Gewicht und Verlust an Gewicht	Quantität des N im Urin während des Experiments	Quantität des N im Urin auf 1 Kilo per Tag
		Tage	gr	gr	gr	gr
1	Kaninchen unter normalen Bedingungen, aber ohne Wasser	3	1550 1430	1490 120 (7,73 %)	1,021	0,236
2	Dasselbe Kaninchen in sterilisierter Luft (ohne Nahrung und Wasser)	4	1480 1275	1377 205 (13,85 %)	4,096	0,742
3	Kaninchen unter normalen Bedingungen (ohne Nahrung und Wasser) . .	3	1570 1460	1515 110 (7,01 %)	1,235	0,276
4	Dasselbe Kaninchen in sterilisierter Luft (ohne Nahrung und Wasser)	4	1405 1220	1312 185 (13,08 %)	1,890	0,359
5	Kaninchen (normal, aber ohne Nahrung u. Wasser)	3	1340 1230	1285 110 (8,55 %)	0,794	0,205
6	Dasselbe Kaninchen in sterilisierter Luft (ohne Nahrung und Wasser)	5	1350 1130	1240 220 (16,29 %)	2,740	0,442
7	Kaninchen (normal, aber ohne Nahrung u. Wasser)	3	965 900,5	932,7 64,5 (6,68 %)	0,672	0,240
8	Dasselbe Kaninchen in sterilisierter Luft (ohne Nahrung und Wasser)	5	955 635	795 320 (33,4 %)	4,554	0,954
9	Kaninchen (normal, aber ohne Nahrung u. Wasser)	3	1080 1000	1040 80 (7,4 %)	1,597	0,508
10	Dasselbe Kaninchen in sterilisierter Luft (ohne Nahrung und Wasser)	5	1140 910	1025 230 (20,1 %)	2,364	0,461
11	Kaninchen (normal, aber ohne Nahrung u. Wasser)	4	1499 1340	1419 159 (10,6 %)	1,116	0,196
12	Kaninchen in sterilisierter Luft (ohne Nahrung u. Wasser)	4	1270 970	1120 300 (23,62 %)	4,232	0,944
13	Kaninchen (normal, aber ohne Nahrung u. Wasser)	4	1049 895	972 154 (14,68 %)	1,331	0,332
14	Kaninchen (v. Exper. 11) in sterilisierter Luft (ohne Nahrung und Wasser)	2	1415 1250	1332,5 165 (11,6 %)	2,334	0,868
15	Kaninchen (normal, aber ohne Nahrung u. Wasser)	5	1120 860	990 260 (23,2 %)	2,226	0,449
16	Kaninchen (normal, aber ohne Nahrung u. Wasser)	6	1590 1375	1482,5 215 (13,5 %)	3,722	0,419

Quantität N des Harnstoffs während des Experiments	N des Harn- stoffes auf 1 Kilo per Tag	Quantität der Leukomaine im ganzen Urin		Quantität der Leukomaine auf 1 Kilo per Tag		Verhältniss des ganzen N des Urins zu dem N des Harnstoffes	Ventilation des Apparates	Zahl von Athem- zügen per 1 Minute
gr	gr	cc	gr	cc	gr			
0,915	0,205	—	—	—	—	100 : 86,9	1—1½ Liter per 1 Minute.	33—70
3,012	0,546	—	—	—	—	100 : 73,5		25—64
1,112	0,249	16,5	0,068	3,6	0,014	100 : 90,2		50—74
1,539	0,292	56,4	0,292	10,7	0,055	100 : 81,0		35—60
0,714	0,185	11,2	0,049	2,9	0,012	100 : 90,3		56—70
1,460	0,235	79,1	1,244	12,2	0,202	100 : 53,1		38—64
0,607	0,215	8,0	0,040	2,7	0,014	100 : 89,5		64—76
2,768	0,695	35,3	1,250	7,4	0,314	100 : 60,8		32—52
1,429	0,457	14,1	0,297	4,5	0,095	100 : 89,9		56—72
1,449	0,280	46,0	0,855	7,5	0,138	100 : 60,7		32—64
0,996	0,174	12,2	0,072	2,2	0,012	100 : 89,0		38—72
2,571	0,574	144,6	3,600	32,2	0,803	100 : 60,8		33—70
1,213	0,311	25,2	0,223	6,4	0,057	100 : 91,1		54—72
1,289	0,482	59,7	1,545	22,3	0,579	100 : 55,5		32—74
2,010	0,406	48,1	1,110	9,7	0,224	100 : 90,3		48—62
3,422	0,385	44,8	0,896	4,9	0,10	100 : 91,6	½ L. per 1 Min.	34—80

wurde; (die anderen Wolfram-Phosphorsäuren präcipitiren unter diessn Umständen auch den Harnstoff). Die nach der Methode Scheibler's hergestellte Auflösung von Wolfram-Phosphorsäure war sorgfältig auf die Präcipitirungs-Fähigkeit des Harnstoffes untersucht worden; aber jedes Mal war das Resultat verneinend.

Die quantitative Bestimmung der Leukomaine des Urins wurde gemacht nach dem Verfahren von Professors Poehl²⁾ sowohl durch Sammlung des Niederschlages in einem eudiometrischen Rohr, als auch, in einigen Analysen, durch Umbrennen des nach dem Verfahren Kjeldahl's gewaschenen Niederschlages, mit darauf folgender Rectification und Titirung des N. aus NH^3 .

Bei der Analyse des Urins nahm ich 30 ccm gut gemischten Urins, der mit 5mal so viel destillirten Wassers vermenget wurde, bis zu 150 ccm. Zwei Theile zu 10 ccm wurden für die Analyse des gsammtten N. nach der Methode Kjeldahl's genommen, und zu 100 ccm vermengeten Urins 25 ccm ClH , 15 ccm 10 pCt. Wolfram-Phosphorsäure und 10 ccm destillirten Wassers hinzugefügt. (150 ccm von dieser Mischung waren entsprechend 100 ccm vermengeten Urins.)

Der Niederschlag der Leukomaine setzt sich auf den Boden des Gefässes. Ich nahm 3—6 ccm der durchsichtigen Flüssigkeit für die eudiometrische Bestimmung des N. des Harnstoffes (nach dem Verfahren des Professors Borodine). Das Volumen des abgetheilten N. war entsprechend 2—4 ccm verdünnten Urins. Ich gebrauchte Bromlange in folgender Mischung: 1 Theil Brom auf 4 Theile einer Auflösung von Natrium causticum (1 Theil $\text{NaHO} + 2$ Theile Wasser.)

Die durchsichtige Flüssigkeit über dem Niederschlage der Leukomaine wurde behutsam abgossen und das Präcipitat in dem eudiometrischen Rohr gesammelt. Prof. Poehl hat berechnet, dass man bei einer Division der Zahlen der ccm des Leukomains-Präcipitats auf 8 eine Summe bekommt, die dem Gewichte der Leukomaine in 1000 ccm des Urins nahe kommt. (Eben diese Ziffern sind in der Tabelle auf Taf. XIV in einer Reihe mit den ccm der Leukomaine angegeben).

Bei dem ersten Process, dem des Sammelns des Niederschlages in dem eudiometrischen Rohr, giebt leider Professor

¹⁾ Zeitschrift der medic. Chemie und Pharm. No. 13. und 14. 1896. S. 556—560.

