

(Aus dem Physiologischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

## **Beiträge zum Permeabilitätsproblem.**

I. Mitteilung.

### **Entgiftungsstudien mittels des lebenden Peritoneums als „Dialysator“.**

Von

**Dr. Desider Engel** (z. Zt. in Shanghai)

und

**Dr. Aladár Kerekes.**

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 11. Februar 1927.)

#### **1. Problemstellung.**

Das Ideal, das uns bei der Inangriffnahme dieser Studien vorschwebte, war, einen vergifteten lebenden Organismus durch Verwendung des Peritoneums als Vitaldialysator zu entgiften. Die große praktische Bedeutung dieses Problems liegt auf der Hand: die Vitaldialyse könnte, wenn sie sich als brauchbar erweist, einen Umschwung in der Behandlung mancher toxischer Erkrankungen — einerlei, ob wir darunter bakterielle oder chemische Toxine verstehen — bedeuten.

Wie weit die Bezeichnung „Vitaldialyse“ berechtigt ist, soll im zweiten Teil der Arbeit des näheren besprochen werden. Hier sei einstweilen nur erwähnt, wie wir uns diese Vitaldialyse vorstellen: Ein parenteral verabreichter, im Blute kreisender Körper umspült zwei Membransysteme, die wir z. T. aus Anschaulichkeitsgründen voneinander künstlich trennen. Das eine System wollen wir als angiocelluläres bezeichnen und verstehen darunter die große Berührungsfläche des Capillarsystems mit den Geweben des Gesamtorganismus, das andere System wollen wir angioperitoneal nennen; es trennt den großen Blutkreislauf von der Peritonealhöhle. Das erstere System wollen wir der Kürze halber in der nachstehenden Skizze und im weiteren mit „A“, das letztere mit „B“ bezeichnen; „X“ bedeutet das umspülende Blutmedium.

Die Membran des ersteren als solche soll nicht in den Kreis unserer Betrachtungen einbezogen werden. Die des letzteren besteht aus dem Capillarendothel, aus dem Serosaepithel und aus der die beiden ver-

klebenden Kittsubstanz. Sie wird, da wir — siehe Versuchstechnik — die Bauchhöhle dauernd berieseln, von beiden Seiten umspült: auf der Innenseite vom strömenden Blut, an der Außenseite von der Spülflüssigkeit. Die Membranfläche des angiocellulären Systems (A) ist bedeutend größer als die des angioperitonealen. Sie wird also schon aus diesem Grunde die Vorgänge des letzteren stark beeinflussen. (Sie wurde deshalb in der Skizze größer gezeichnet.) Es ist leicht einzusehen, daß zwischen den beiden Systemen, da sie durch ein gemeinsames Medium, das Blut, miteinander in Verbindung stehen, sich ein Gleichgewichtsverhältnis einstellen wird, wobei in erster Linie einerseits die im System A gebundenen, am Gewebe verankerten Mengen, andererseits die durch die Dialyse ausgeschiedenen Mengen in Betracht kommen. Es werden nur jene Substanzen der Dialyse anheimfallen können, die im Blute kreisen und vom Komplex „A“ — unter

dem wir das Gesamtgewebe des Organismus mit seinen Grenzflächen verstehen — nicht gebunden sind. Daß die Lösungsverhältnisse des zu dialysierenden Stoffes in den beiden Systemen (Adsorptionsprozesse, chemische Bindung, Ausfällung usw.) eine große Rolle spielen,

soll hier nur kurz angedeutet werden, um auf die Kompliziertheit der Verhältnisse hinzuweisen. Soviel steht fest, daß jene Substanzen, die in der Spülflüssigkeit erscheinen, vom Komplex „A“ nicht restlos gebunden sind, und zwar entweder weil sie in ihn nicht eindringen konnten, oder aber, weil sie zwar in ihn eindringen, ihn aber wieder, wenigstens zum Teil, passieren. Und gerade deshalb, weil die ausgespülten Substanzen auf die Vorgänge im angiocellulären Komplex Rückschlüsse zu ziehen erlauben, weil sie quasi einen Indikator für die Vorgänge in demselben darstellen, führen sie in ein Gebiet, das nicht nur vom praktischen, sondern auch von theoretischem Gesichtspunkt aus nicht uninteressant erscheint und vielleicht auch methodisch manche Probleme zugänglich machen dürfte.

Um Mißverständnissen aus dem Wege zu gehen, sei an dieser Stelle hervorgehoben, daß wir den Begriffen „angiocellulär“ und „angioperitoneal“ keinesfalls eine räumliche Bedeutung geben wollen. Die angioperitoneale Zellschicht sei vielmehr die Scheidewand, die sich in der Konkurrenz der Bauchflüssigkeit mit den Körperzellen um den Stoff gegebenenfalls als undurchdringbar erweist, soll aber keinesfalls bedeuten, daß der Farbstoff peritonealwärts — im anatomischen Sinne

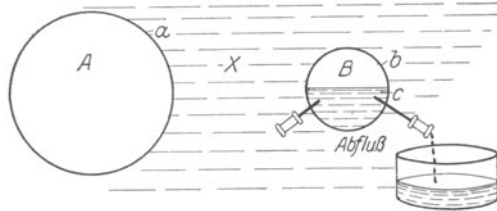


Abb. 1. A = Angiocellulärer Komplex; B = angioperitonealer Komplex; a = Angiocelluläre Membran; b = angioperitoneale Membran; c = Spülflüssigkeit; X = Gesamtblut.

— gar nicht eindringt. Die basischen Farbstoffe sind z. B. nach subcutaner Injektion imstande, die Bauchwand so tief zu durchtränken, daß ihre peritoneale Seite tief gefärbt erscheint, und trotzdem bleibt die Bauchflüssigkeit unverändert farblos.

Die Frage der Vitaldialyse wurde zum erstenmal von *Necheles*<sup>1)</sup> aufgeworfen, der es versuchte, bei nephrektomierten Hunden die Niere durch ein Dialysiersystem zu ersetzen, indem er das Blut in ein Röhrensystem herausleitete, das nach den Angaben von *Wiechowski* aus Goldschlägerhaut (Peritonealmembran) hergestellt wurde. Er setzte dem Blut, um die Gerinnung zu vermeiden, Hirudin zu. Das Resultat einer etwa 3stündigen Dialyse war die, daß der Reststickstoff von 0,122%, in einem zweiten Versuch von 0,218% (vor der Dialyse) auf 0,101% resp. 0,161% herunterging. *Necheles* meint, das Leben der Tiere wurde durch die Dialyse nicht verlängert, die urämischen Erscheinungen gingen aber nach der Dialyse prompt zurück. Besonders viel Harnstoff konnte er in der Umgebungsflüssigkeit nachweisen. Der Autor erwartet von der Anwendung dieser Methode bei der Eklampsie Erfolg.

*Haas*<sup>2)</sup> konnte die Resultate von *Necheles* bestätigen. Nur sieht er in den schweren Folgen der Hirudinbeibringung ein Hindernis der praktischen Anwendbarkeit.

Wir glauben den Befürchtungen von *Haas* in bezug auf die schweren Folgen von Hirudinbeibringung — worüber wir keine eigenen Erfahrungen haben, die aber nach *Necheles* scheinbar bei den Tieren vermeidbar sind — beipflichten zu können. Jedenfalls würde die Herausleitung des Blutes in ein Röhrensystem große technische Schwierigkeiten machen (Emboliegefahr usw.) und würde einer Allgemeinverwendung der Methode hinderlich in den Weg treten.

Deshalb war der Vorschlag von *Ganter*<sup>3)</sup>, nach welchem wir es gar nicht notwendig haben, das Blut aus dem Körper herauszuleiten, da wir ja in den großen Serosahöhlen der Peritonealhöhle und der Pleurahöhle ein natürliches Dialysiersystem besitzen, sehr begrüßenswert. Es ist sein Verdienst, auf dieses wichtige Moment hingewiesen zu haben, und seine Publikation war es auch, die uns zur Weiterforschung veranlaßte. *Ganter* hat bei Kaninchen und Meerschweinchen beide Ureteren unterbunden und dann in die Bauchhöhle der Tiere Kochsalzlösung infundiert. Er sah anfangs einen Rückgang der urämischen Erscheinungen nach Ablassen der Flüssigkeit, konnte aber das Rezidiv nicht verhindern. Der Autor meint, daß dieser Technik beim Menschen nichts im Wege steht und schlägt sogar vor, die Infusion durch eine Dauerspülung zu ersetzen. Er weiß übrigens auch über einen urämischen Fall beim Menschen zu berichten.

Dem Vorschlage *Ganters*, anstatt der isotonischen Lösung eine hypertonische zu verwenden, können wir uns in unseren Versuchen nicht anschließen, erstens weil, wie wir gesehen haben, auch die Tiere die hypertonische Lösung nicht am besten vertragen, zweitens weil die hypertonische Lösung nur Wasser vom Organismus anziehen würde, um die osmotischen Differenzen auszugleichen, nicht aber die toxisch wirkenden Substanzen.

Während unserer Versuche wurde uns die Arbeit von *Putnam*<sup>4)</sup> bekannt, der sich mit dem Problem des Bauchfells als Dialysiermembran des näheren beschäftigt und zum Teil zu ähnlichen Resultaten kam wie wir.

<sup>1)</sup> *Necheles*: Klin. Wochenschr. 1923, S. 1257.

<sup>2)</sup> *Haas*: Klin. Wochenschr. 1923, S. 1888.

<sup>3)</sup> *Ganter*: Münch. med. Wochenschr. 1923, S. 1478.

<sup>4)</sup> *Putnam*: Americ. Journ. of Physiol. 63, 548. 1923.

Die theoretischen Grundlagen der Vitaldialyse sind sehr lückenhaft, zum Teil auch widersprechend. Das Permeabilitätsproblem, das mit der Vitaldialyse in engem Zusammenhang steht, wurde von den erwähnten Autoren so gut wie gar nicht berücksichtigt. So wird z. B. der wichtige Komplex „A“ des angiozellulären Systems von niemandem beachtet.

Wir wollen im ersten Teile der Arbeit die Permeationsfähigkeit von Farbstoffen prüfen und im Zusammenhang damit auf manche Fragen des Permeabilitätsproblems eingehen. Der zweite Teil hat hauptsächlich den Durchgangsvorgang, seinen Mechanismus und das Entgiftungsproblem zum Gegenstand.

Wir haben in unseren Versuchen zunächst hauptsächlich Farbstoffe verwendet, da sie erstens technisch leicht nachweisbar sind und zweitens bei der Erforschung des Permeabilitätsproblems, mit dem wir es ja auch hier zu tun haben, bereits gute Dienste geleistet haben.

## 2. Versuchstechnik.

Es wurden zu unseren Versuchen größtenteils weiße Mäuse, Kaninchen, Frösche und zum Teil auch Meerschweinchen verwendet. Es ist wichtig, daß man eine Versuchsserie mit derselben Tierart macht, denn es bestehen in bezug auf die Durchlässigkeit des Peritoneums spezifische Unterschiede. Der Farbstoff wurde bei Mäusen subcutan am Halse oder intravenös in die Schwanzvene, evtl. in die auspräparierte Jugularvene verabreicht; bei Kaninchen wurde zu diesem Zwecke die Ohrvene verwendet. Wir gaben meistens 1proz. wässrige Farbstofflösungen. Die Dosis betrug davon gewöhnlich 1 ccm bei der Maus, bei größeren Tieren entsprechend mehr; nur bei den oft giftigen basischen Farbstoffen gaben wir manchmal geringere Dosen. Mit der Durchspülung wurde gewartet, bis die Haut oder der Urin gefärbt erschien, was mit Bestimmtheit darauf hindeutete, daß der Farbstoff bereits im Blute kreist. Dies dauerte ca. 10—60 Minuten, selten länger. Dann wurde unter Anheben der Bauchwand in die Peritonealhöhle eine Kanüle eingestochen, die mit einem Gefäß in Verbindung stand (Zufluß). Wir arbeiteten meistens mit 15—20 cm Wasserdruck. Sobald sich durch die erste Kanüle die Bauchhöhle prall füllte, wurde eine zweite Kanüle in die andere Bauchflanke eingeführt, die mittels eines kleinen Schlauches in ein leeres Gefäß geleitet wurde (Abfluß). Beim Einstechen der Kanülen haben wir peinlichst darauf geachtet, daß kein Gefäß oder irgendein Organ verletzt wird. War dies der Fall, so wurde der Versuch natürlich sofort abgebrochen und nicht verwendet. Die Klarheit der Spülflüssigkeit bietet eine sichere Garantie dafür, daß zwischen Gefäßsystem und Bauchhöhle keine direkte Verbindung besteht. Im Zweifelsfalle wurde das Mikroskop zu Hilfe gezogen. Als Spülflüssigkeit verwendeten wir entweder Ringer- oder physiol. Kochsalzlösung mit 0,1 % Zusatz von Traubenzucker. Die Spülflüssigkeit wurde auf 42° angewärmt. Die Frösche haben wir mit 18° C Frosch-Ringer gespült. Die Spülung wurde ½—4 Stunden durchgeführt. Im allgemeinen vertrugen die Tiere die Spülung sehr gut, sogar die Mäuse überlebten manchmal diesen Prozeß, wenn sie nicht zwecks Sektion getötet wurden; größere Tiere, wie Kaninchen, blieben meistens am Leben. Gegen Abkühlung waren auch diese sehr empfindlich und exitierten dabei fast immer. Als empfindlichstes Tier erwies sich das Meerschweinchen. Wenn an zwei Tieren Parallelversuche gemacht wurden, haben wir genau dem Gewicht entsprechende Farbendosen injiziert. Wo

es darauf ankam, die Bauchhöhle rasch zu entleeren resp. zu füllen, weil die zeitlichen Verhältnisse in Betracht gezogen werden mußten, wurde bei Kanin-

Tabelle 1.

Name des Farbstoffes	Inj. Menge	Applikationsstelle	Spüldauer
Indigocarmin ( <i>Kahlbaum</i> ) . . .	1 ccm v. 2proz. Lösung	Subcutis	40 Min.
Eosin gelblich ( <i>Merck</i> ). . . . .	dgl.	dgl.	1¼ Std.
Methylenblau . . . . .	1 ccm v. 1proz. Lösung	dgl.	2 Std.
Brillantgrün ( <i>Merck</i> ) . . . . .	dgl.	dgl.	1¼ Std.
Fuchsin S ( <i>Merck</i> ) . . . . .	dgl.	dgl.	2¼ Std.
Lichtgrün F. S. ( <i>Grübler</i> ). . . .	½ ccm v. 1proz. Lösung	dgl.	½ Std.
Gentianablau 6 B. . . . .	0,2 ccm v. konz. Lösung	Schwanzvene	35 Min.
Malachitgrün . . . . .	1 ccm v. 2proz. Lösung	Subcutis	1 Std.
Methylviolett 6 B. . . . .	2 ccm v. konz. Lösung	Vena jugularis	1¼ Std.
Krystallviolett 0 (M. L. B.). . .	0,3 ccm v. 1proz. Lösung	Subcutis	1 Std.
Congorubin ( <i>Grübler</i> ). . . . .	dgl.	dgl.	1 Std.
Methylgrün. . . . .	1 ccm v. 1proz. Lösung	dgl.	¼ Std.
Orangegelb G. (M. L. B.). . . .	dgl.	dgl.	1 Std.

\*) Die Entfärbung von Säurefuchsin veranlaßte *Putnam* zur Annahme, daß das zu große Farbstoffmengen verabreicht wurden, in die ungefärbte Karbinolform

\*\*) Dieser Versuch wurde wegen seiner Wichtigkeit öfters wiederholt. Die Resultate

chen durch eine kleine Hautincision bis an das Peritoneum vorgegangen; sodann wurde dieses, um eine Blutung zu vermeiden, mit einem Thermokauter durchtrennt und in der Öffnung mittels einer die Fascie und Muscularis fassenden Tabaksbentelnahrt ein am eingenähten Ende pilzförmig aufgetriebenes Glasrohr fixiert. Durch dieses Rohr konnte die Bauchhöhle jederzeit rasch gefüllt und entleert werden, was durch die engen Kanülen eine beträchtliche Zeit in Anspruch nahm.

Narkotisiert wurden die Tiere nie.

Wo es notwendig erschien, insbesondere bei vergleichend-quantitativen Untersuchungen der Flüssigkeiten, wurde ein Krüßsches Chromoskop verwendet.

Fast allen Versuchen wurde eine Sektion angeschlossen, auch in jenen Fällen, wo dies im angeführten Protokoll wegen Platzmangels nicht angegeben wurde. Man überzeugt sich hiebei von der Färbung der Organe und von der richtigen Lage der Kanülen.

### 3. Versuchsergebnisse.

#### a) Farbstoffversuche.

Zur Orientierung verwendeten wir anfangs ziemlich wahllos Farbstoffe alkalischen wie sauren Charakters, hochdisperse und stark kol-

loidale Farbstoffe. Die Versuchstiere waren Mäuse. In der nachstehenden Tabelle geben wir die wichtigsten Versuchsergebnisse wieder.

*Versuche Nr. 1—13.*

Vorgänge in der Spülflüssigkeit	Sektionsbefund	Bemerkungen
Schon nach 5 Min. deutlich blau	Leber, Duodenum + Niere und Blaseninhalt ++ sonst ungefärbt	Das Tier lebt
Deutlich rosa gefärbt	Peritoneum und Organe +	dgl.
Bis zu Ende ungefärbt	Leber, Dünndarm, Niere, Pankreas, Herz +++ Nebenniere, Lymphdrüsen + sonst ungefärbt	dgl.
Bis zu Ende ungefärbt. Keine Änderung nach Ansäuerung	Blaseninhalt ungefärbt	dgl.
Die Spülflüssigkeit lange ungefärbt. Nach Zusatz von 1 Tropfen Essigsäure intensive Rotfärbung*)	Peritoneum rosarot. Niere +++ Sonst ungefärbt	Exitus
Spülflüssigkeit dunkelgrün	Alle Organe (Milz ausg.) gefärbt	dgl.
Keine Spur von Farbe	Fast alle Organe gefärbt	Spontaner Exit.
Spülflüssigkeit farblos	Oberster Dünndarm, Niere und Nebenniere gefärbt	dgl.
Spülflüssigkeit ungefärbt	—	—
Keine Spur von Farbe	—	—
Keine Spur von Farbe	Keine Rotausscheidung im Harn	—
	Duodenum gefärbt	—
Keine Spur von Farbe**)	Der Urin ist grün	—
Intensive Gelbfärbung	—	Das Tier lebt

S. Fuchsin in der Spülflüssigkeit nicht erscheint. Es geht nämlich, wenn nicht über und muß dann mit Säurezusatz regeneriert werden. tate sind einheitlich.

Wir sehen aus den obigen Versuchen, daß ein großer Teil der Farbstoffe, ob sie nun intravenös oder subcutan verabreicht wurden, in der Spülflüssigkeit erscheint. Es war nun von Interesse, festzustellen, was der maßgebende Faktor bei der Ausscheidung der einzelnen Farbstoffe sei, weshalb ein Teil der Farbstoffe ausgeschieden wird und der andere nicht, ob in diesem Verhalten der Farbstoffe irgendeine Regelmäßigkeit feststellbar sei. Es wurde in erster Linie an die Teilchengröße der Farbstoffe gedacht, in der Annahme, daß die Permeationsfähigkeit eines Farbstoffes etwa dem Dispersitätsgrade desselben proportional sei, daß also nur hochdisperse Farbstoffe das Bauchfell passieren. Es wurde daher die Diffusibilität der verwendeten Farbstoffe in hoher Gelatine geprüft (siehe Versuch 14).

*Versuch 14.*

Es wird eine 20proz. wässrige Gelatinelösung hergestellt und diese in Eprouvetten eingefüllt. Die einzelnen Eprouvetten werden mit je 2 ccm einer 1prom. Lösung folgender Farbstoffe überschichtet:

Tabelle 2.

Farbstoffe	Chem. Charakter	Diffusionszone nach 5 Tagen in mm	Durchgang in die Spülflüssigkeit
Indigocarmin ( <i>Kahlbaum</i> ) . . . . .	sauer	13	positiv
Eosin gelbl. ( <i>Merck</i> ) . . . . .	sauer	13	positiv
Methylenblau . . . . .	basisch	19	negativ
Brillantgrün M. . . . .	basisch	20	negativ
Fuchsin S. ( <i>Merck</i> ) . . . . .	sauer	15	positiv
Lichtgrün F. S. ( <i>Grübler</i> ) . . . . .	sauer	8	positiv
Gentianablau 6 B. . . . .	basisch	15	negativ
Malachitgrün . . . . .	basisch	25	negativ
Wasserblau 6 B. (extra) (M. L. B.) . . . . .	sauer	2	negativ
Krystallviolett 0 (M. L. B.) . . . . .	basisch	7	negativ
Congorubin ( <i>Grübler</i> ) . . . . .	basisch	10	negativ
Methylgrün . . . . .	basisch	12	negativ
Orangegelb G. (M. L. B.) . . . . .	sauer	21	positiv

Das Resultat dieses Versuches war sehr überraschend, indem wir feststellen konnten, daß ein Zusammenhang zwischen Diffusion und Dispersitätsgrad der Farbstoffe bei unserer Versuchsanordnung zunächst nicht zu bestehen scheint, daß im Gegenteil Farbstoffe, die im Reagensglas ein kolossales Diffusionsvermögen besitzen, das lebende Peritoneum nicht durchdringen, und daß andererseits Farbstoffe mit sehr geringer Diffusionsfähigkeit in der Spülflüssigkeit erscheinen. So finden wir z. B. Malachitgrün (25 mm), Brillantgrün (19 mm), Methylenblau (15 mm), Gentianablau (15 mm), welche sich durchwegs als leicht, zum Teil optimal (Malachitgrün) diffusibel erwiesen, das Peritoneum nicht passierten. Demgegenüber konnte z. B. das bedeutend schwerer diffusible Lichtgrün (8 mm) in der Spülflüssigkeit nachgewiesen werden.

Wenn wir nun die Farbstoffe ihrem chemischen Charakter nach prüfen, so können wir eine interessante Gesetzmäßigkeit feststellen: *Alle Farbstoffe, die ausgespült werden konnten, sind sauren, fast alle, die ein negatives Resultat ergaben, sind basischen Charakters.* Die sauren Farbstoffe gehören meistens in die Sulfosäuregruppe.

Es war nun zu prüfen, ob diese Gesetzmäßigkeit auch an einer größeren Anzahl von Farbstoffen sich bestätigt. Es wurden in dieser 2. Reihe hauptsächlich saure Farbstoffe ganz verschiedener chemischer Gruppen gewählt. Wir nahmen nur einen einzigen basischen Farbstoff, das Safranin. Die folgenden Versuche bestätigten die Resultate der ersten Versuchsserie: Wieder konnte kein Zusammenhang zwischen Ausspülbarkeit und Diffusibilität einerseits, wohl aber ein durchgehender Zusammenhang mit dem chemischen Charakter andererseits festgestellt werden. Die Versuche wurden wieder in derselben Weise ebenfalls an Mäusen ausgeführt, wie dies bei der ersten Versuchsreihe beschrieben wurde. Die folgende Tabelle zeigt uns die Resultate.

Tabelle 3. *Versuche 15—23.*

Farbstoff	Chem. Charakt.	Diffus. nach		Durchgang in die Spülflüssigkeit	Sektionsbefund
		24Std. mm	70Std. mm		
Ponceau 3 R. M. L. B. . . .	sauer	3	8	gleich rötlich	{ Niere +++ Leber, Darm —
Echtgelb 0 M. L. B. . . . .	„	9	20	intensiv gelb	—
Tartracin (Bad. A.-F.) . . .	„	9	13	intensiv gelb	Organe +++
Brillanterocein 9 B. . . . .	„	2	5	Nach ¼ Std. deutlich rot	—
Safranin. . . . .	basisch	10	18	nach 2 Std. keine Färbg.	Organe +++
Naphthol gelb S (Cass.) . .	sauer	11	20	intensiv gelb	{ Organe ++ Dünndarm +++
Patentblau. . . . .	„	5	10	bleibt farblos	{ Leber +++ Darm, Niere + Galle +++
Cyanol extra (Cass.) . . . .	„	9	16	nach ½ Std. hellblau, später dunkler	{ Duodenum, Harnblase, Haut ++ Leber, Niere +

Wir sehen aus obiger Tabelle, daß das Resultat dieser Versuchserie sich mit jenem der ersteren deckt, bis auf das Abweichen des sauren Patentblau, das aus unbekanntem Grunde in der Spülflüssigkeit nicht erscheint (vgl. Wasserblau in Tabelle 1). Von den angewandten 7 sauren Farbstoffen konnten 6 durch die Bauchhöhle ausgespült werden. Der eine basische Farbstoff wurde nicht ausgeschieden, trotzdem er von allen Farbstoffen fast am besten in Gelatine diffundierte. Auch hier sehen wir, wie bei der ersten Farbstoffgruppe, einzelne Farbstoffe, die zwar sehr wenig diffundieren, z. B. das Brillantcrocein, trotzdem in der Spülflüssigkeit erscheinen.

#### b) *Doppelversuche mit Farbstoffen.*

Um dem Einwande vorzubeugen, daß zwischen den einzelnen Tieren, durch verschiedene äußere Umstände — wie wir sehen werden, kommt hier hauptsächlich die H-Ionenkonzentration des Blutes in Betracht — ausschlaggebende Unterschiede bestehen, die den Ausfall des Versuches beeinflussen, verabreichten wir *demselben Tier* gleichzeitig an zwei verschiedenen Stellen *gleiche Mengen eines sauren und eines basischen Farbstoffes*. Wir nahmen hier als sauren Farbstoff mit Vorliebe Fuchsin S, da er, im Organismus entfärbt, die Farbe des evtl. erscheinenden anderen Farbstoffes nicht verdeckt. Es wurde die Kombination Fuchsin S—Brillantgrün, Orangegelb—Gentianablau 6B und Lichtgrün—Gentianablau 6B gewählt. Die Versuchstiere waren Mäuse (Versuch 24—26). In allen Fällen erschien der saure Farbstoff in der Spülflüssigkeit ohne die geringste Beimengung des basischen Farbstoffes.

Daß die basischen Farbstoffe, auch wenn sie leicht diffusibel sind, nicht ausgeschieden werden, stand nun für uns fest. Aus welchem



Grunde dies der Fall ist, darauf kommen wir später noch zu sprechen. Es war nun noch zu untersuchen, ob nicht innerhalb der sauren Farbstoffgruppe in der Ausscheidungsmenge quantitative Unterschiede feststellbar sind, die doch auf einen Zusammenhang zwischen Diffusibilität des Farbstoffes und seiner Ausspülbarkeit schließen ließen. Die folgenden Versuche bejahen diese Frage.

*Versuch 27.*

Es wird zwei gleichgroßen Mäusen subcutan 0,4 ccm einer 1proz. Orangegebl- resp. Lichtgrünlösung injiziert.  $\frac{1}{2}$  Stunde danach gleichzeitig Bauchspülung, wobei genau auf dieselbe Spülmenge und Spüldauer geachtet wird. Die Spülflüssigkeit ist beiderseits gefärbt.

Es wird nun von beiden injizierten Stamm-Farbstofflösungen eine 10000fache Verdünnung hergestellt und die beiden gefärbten Spülflüssigkeiten mittels des Colorimeters von *Krüse* (mit Lummerscher Prismenanordnung) mit den verdünnten Stammlösungen verglichen. Es wurde 7,5mal so viel Orangegebl als Lichtgrün ausgespült. Die Diffusionsgeschwindigkeit von Orangegebl beträgt 21 mm, die von Lichtgrün 8 mm.

*Versuch 28.*

Bei derselben Versuchsanordnung ergaben Ponceau und Echtgelb ähnliche Resultate: vom leichter diffusiblen Echtgelb (9 mm) wurde 10mal so viel ausgespült als vom weniger diffusiblen Ponceau (3 mm).

Wir sehen aus den letzten Versuchen, daß unsere ursprüngliche Annahme, nach welcher zwischen Diffusibilität und Ausspülbarkeit eines Farbstoffes kein Zusammenhang bestehe, nicht richtig ist. Dies gilt nur dann, wenn wir basische und saure Farbstoffe, wie wir dies anfangs taten, miteinander vergleichen. Vergleichen wir die sauren Farbstoffe aber *untereinander* und ziehen die basischen, die im Körper zurückgehalten werden, nicht in Betracht, so sehen wir, daß zwischen Teilchengröße resp. Diffusibilität der sauren Farbstoffe einerseits und dem Grade ihrer Ausspülbarkeit andererseits eine gerade Proportionalität besteht. Leicht diffusbile saure Farbstoffe werden also in größerer Menge ausgeschieden als hochkolloidale.

Fassen wir die bisherigen Resultate der Farbstoffversuche zusammen, so können wir feststellen, daß *alle basischen Farbstoffe vom Organismus zurückgehalten werden, fast alle sauren Farbstoffe hingegen in der Spülflüssigkeit der Bauchhöhle erscheinen. Nur Patentblau, Wasserblau und Congorubin weichen von der Regel ab. Die Ausscheidungsmenge der sauren Farbstoffe ist ihrer Diffusibilität proportional.*

Bevor wir nun auf die Deutung unserer vorläufigen Resultate eingehen, wollen wir uns zunächst vergegenwärtigen, was das Schicksal eines injizierten Farbstoffes ist, auf welchem Wege er in die Spülflüssigkeit der Bauchhöhle gelangt und was mit ihm unterwegs geschieht.

Der subcutan verabreichte Farbstoff gelangt durch Resorption auf dem Lymphwege in den Kreislauf und auf diese Weise zu den Geweben und Organen. Nun bestehen zwei Möglichkeiten: Entweder wird der

Farbstoff von den Geweben aufgenommen und verschwindet, wenn die Aufnahmefähigkeit des Organismus durch zu große Dosen nicht überschritten wird, aus dem Blutkreislauf, oder aber die Gewebe nehmen den Farbstoff nicht auf, er verbleibt im Kreislauf, bis er durch die Exkretionsorgane, Niere, Haut, Darmkanal, Leber usw., ausgeschieden wird. Es ist natürlich auch eine Kombination der beiden Vorgänge denkbar. Eine dritte Möglichkeit ist, daß der zu den Geweben gelangende Farbstoff von diesem zwar aufgenommen wird, die Gewebe aber wie eine Zwischenstation ungehindert passiert.

Der im Blute kreisende Farbstoff gelangt nun wie zu den anderen Organen auch in das Capillarnetz des Bauchfelles, und zwar sowohl in das des Peritoneum parietale, wie in das des P. viscerale. Daß diese kolossale Oberfläche mit ihrer reichlichen Gefäßversorgung, auf welche die Spülung noch als Reiz wirkt, eine gute Ausscheidungsmöglichkeit bietet, braucht nicht des näheren erörtert zu werden. Da wir uns das Gefäßsystem als ein geschlossenes vorstellen und wir auch unter „Stomata“ des Peritoneums nicht eine Kontinuitätstrennung darstellende Lücken zu verstehen haben, müssen wir annehmen, daß der in den Capillaren kreisende Farbstoff das Endothel des Gefäßes und das Epithel des Peritoneums, samt dem die beiden verklebenden lockeren Bindegewebe, passieren muß, um in der Spülflüssigkeit erscheinen zu können.

Wir sehen aus dieser Schilderung, daß die Ausscheidung des Farbstoffes durch das Bauchfell von vielen Komponenten beeinflusst werden kann. Nehmen wir die einzelnen Faktoren der Reihe nach. Den Weg von der Subcutis zum Gefäßsystem können wir vernachlässigen, hauptsächlich deshalb, weil für uns der Versuch nur in dem Momente begann, als wir eine Färbung des Harns oder der Haut beobachten konnten, also ein sicheres Zeichen vom Eindringen des Farbstoffes in den Blutkreislauf hatten. (Bei quantitativen Versuchen gaben wir meistens intravenöse Injektion.)

Ein zweiter Faktor, den wir nicht eliminieren können, ist die spontane Exkretion des Farbstoffes durch die Niere, die Leber usw. Wir haben aber absichtlich mit so großen Farbstoffmengen gearbeitet, daß diese kleinen Ausscheidungsmengen gar nicht in die Wagschale fallen. Wir haben vielmehr stets ein Parallelgehen der Exkretion durch die Niere und der peritonealen Ausscheidung beobachten können. Meistens haben wir eine gute Ausspülbarkeit bei solchen Farbstoffen gefunden, die auch im Harn rasch erschienen. Käme die Exkretion als ernster Fehler in Betracht, so würden wir das Gegenteil sehen müssen.

Es bleiben nun noch zwei die Farbstoffausscheidung bedingende Faktoren, mit denen wir uns des näheren zu beschäftigen haben, das ist erstens das Verhalten der Gewebe zum Farbstoff oder die Affinität des Farbstoffes zum Gewebe, sein Cytotropismus, zweitens der Zustand der Gefäße und seine Beziehung zur peritonealen Membran.

Nehmen wir zunächst letztere Komponente. Wenn wir bildlich das Peritoneum als einen Dialysator betrachten und die Gefäße als ein Leitungssystem, das den zu dialysierenden Stoff zuführt, so scheint es uns selbstverständlich, daß die Dialyse durch den Blutstrom, d. h. durch die Menge des zugeführten Farbstoffes stark beeinflusst wird, und daß alle Zustandsänderungen des Blutgefäßsystems sich fühlbar machen werden. So wäre sicherlich leicht nachzuweisen, daß ein gesteigertes Sekundenvolumen zu einer gesteigerten Ausscheidung führt. Wir haben durch einen Versuch etwas Analoges zu beweisen versucht, daß nämlich durch das Herabsetzen des Sekundenvolumens die Ausscheidung geringer wird. Wir haben durch Töten des Tieres während der Spülung gezeigt, daß das fortlebende Bauchfell die Ausscheidung noch eine Zeitlang fortsetzt, bis die bereits zur Dialysiermembran hingeschafften Farbstoffmengen ausgeschieden werden, daß die Farbtintensität der Spülflüssigkeit aber nach Töten des Tieres alsbald abnimmt, um nach einer gewissen Zeit ganz abzuklingen.

*Versuch 29.*

Injektion von 0,5 ccm einer gesättigten Orangegeblösung subcutan bei einer Maus. Einige Minuten nachher Gelbausscheidung im Harn. Daraufhin wird das Tier getötet. 1 Stunde nach Töten desselben Durchspülung der Bauchhöhle. Die Spülflüssigkeit ist bedeutend heller als beim lebenden Kontrolltier, sie ist aber anfangs deutlich gelb, ca. 10 Minuten lang, und wird allmählich schwächer gelb. Versuch nach 1 Stunde abgebrochen. Die letzte Spülportion noch gelblich.

Sehr instruktiv ist auch der nächste Versuch. Wir injizierten Adrenalin in die Bauchhöhle des Versuchstieres und erzielten damit ein zeitlich beschränktes Sistieren der Farbstoffausscheidung.

*Versuch 30.*

Versuchstier: Maus. Injektion von 1 ccm einer 1 proz. Fuchsin S-Lösung. Harn nach 10 Minuten rot, es wird mit der Bauchspülung eingesetzt. Die Spülflüssigkeit enthält reichlich Farbstoff (Portion 1). Nach  $\frac{1}{4}$  Stunde wird der Zufluß abgestellt und die Bauchhöhle entleert. Intraperitoneale Injektion von 0,1 ccm Adrenalin 1:1000. Die darauffolgende Spülportion (Portion 2) ist fast vollkommen farblos, um nach  $\frac{1}{4}$  Stunde wieder deutlich gefärbt zu werden (Portion 3). Der Unterschied zwischen den einzelnen Portionen ist sehr kraß.

Das kurzdauernde, mit der anämisierenden Wirkung des Adrenalins parallel gehende Sistieren der Farbstoffausscheidung spricht für eine bloß *vasotonische Adrenalinwirkung*, wenn wir auch eine eventuelle direkte Beeinflussung der Permeabilität der Peritonealmembran nicht in Abrede stellen wollen. Wissen wir doch aus neuen Untersuchungen von *Emden* und *Lange*<sup>1)</sup>, daß es durch Zusatz kleinster Mengen von Adrenalin zur Umgebungsflüssigkeit eines Muskels zu einer außerordentlichen Abdichtung der Grenzschicht kommt. Andererseits erfahren wir durch *Müller* und *Petersen*, daß beim Hunde durch Verabreichung von

<sup>1)</sup> *Emden* und *Lange*: Klin. Wochenschr. 1924, S. 129.

intravenöser Peptonlösung, durch Druck auf den Bulbus oculi oder durch elektrische Reizung des am Halse durchschnittenen peripheren Vagustumpfes Änderungen in der Permeabilität des Endothels zu erzielen sind.

Auch der nächste Versuch, in dem wir bei 2 Kaninchen gleichzeitige Durchspülung mit körperwarmer resp. kalter Spülflüssigkeit unter sonst gleichen Versuchsbedingungen ausführten, legt eine solche Deutung nahe.

*Versuch 31.*

Es wird einem Kaninchen von 1500 g intravenös 0,15, einem anderen von 2000 g 0,2 g Ammonrhodanid (10proz.) verabreicht. Beiden wird durch einen kleinen Bauchschnitt ein Glasrohr in die Bauchhöhle eingeführt (siehe Versuchstechnik). 1½ Stunden nach der Injektion wird beiden Tieren durch das Glasrohr 300 ccm (Temp. 13° C) resp. 400 ccm (Temp. 38° C) physiol. Kochsalzlösung mit Traubenzuckerzusatz infundiert. Nach 30 resp. 60 Minuten werden je 25 ccm Bauchflüssigkeit zur Untersuchung abgelassen. Die Lösungen sind absolut klar.

Allen 4 Portionen wird in gleicher Menge Salzsäure und FeCl<sub>3</sub> zugesetzt, und sie werden dann colorimetrisch mit einer Standardlösung von bestimmter Konzentration von Ammoniumrhodanid verglichen. Sowohl von der nach 30 wie von der nach 60 Minuten abgefangenen Spülportion ist die Lösung des warmgespülten Tieres bedeutend dunkler als die des kalten. Die quantitative Bestimmung zeigt eine Differenz von 20% zugunsten des körperwarm gespülten Tieres.

In einem ähnlichen Versuch war die Differenz noch größer. Man wäre ja sicherlich geneigt, auch hier an eine direkte Beeinflussung des Diffusionsvorganges zu denken, die gewiß nicht ganz von der Hand zu weisen ist. Doch glauben wir auch in diesem Falle, der Wirkung der Temperatur auf das Gefäßsystem die ausschlaggebende Rolle zuschreiben zu müssen.

Wir gelangen nun zur Erörterung des wichtigsten Faktors, der die Farbstoffausscheidung beeinflusst, das ist die Affinität des Farbstoffes zum Organismus, der sog. Cytotropismus. Es ist derjenige Punkt, der zufolge seiner allgemeinen Beziehungen auch wohl am meisten Interesse beanspruchen darf. Wir haben bereits in der Einleitung kurz darauf hingewiesen, daß zwischen Farbstoffausscheidung mittels Bauchspülung und Affinität des Farbstoffes zum Organismus ein quantitatives Verhältnis besteht. Nach dem Gesagten ist zu erwarten, daß, wenn wir imstande sind, den Cytotropismus eines Farbstoffes (im System A der Skizze) zu ändern, wir auch eine Änderung in den Ausscheidungsmengen des Farbstoffes in der Bauchspülflüssigkeit werden feststellen können. Wie wir aus den weiteren Versuchen mit angesäuerten Fröschen sehen werden, war dies auch der Fall. Die Frage ist nun, wie weit wir aus den durch die Spülflüssigkeit ausgeschiedenen Mengen des Farbstoffes auf seinen Cytotropismus Schlüsse ziehen dürfen. Bevor wir diese Frage beantworten, wollen wir auch, um späteren Versuchen nicht vorzugreifen, uns zunächst mit dem Permeabilitätsproblem kurz beschäftigen. Wir wissen, daß wir uns damit auf ein heiß umstrittenes Terrain begeben, auf dem noch manche Fragen der Klärung

harren. Da unsere Versuchsanordnung vielleicht eine Möglichkeit zur Lösung einiger Fragen bieten dürfte, so möchten wir die wichtigsten Theorien streifen und nachher durch Versuche, die in bezug auf das Permeabilitätsproblem angestellt wurden, ergänzen.

Es kann nicht unsere Aufgabe sein, den heutigen Stand des ganzen Permeabilitätsproblems aufzurollen, es sei auf die einschlägigen zusammenfassenden Darstellungen von Höber<sup>1)</sup>, v. Tschermak<sup>2)</sup> und v. Möllendorf<sup>3)</sup> hingewiesen. Wenden wir uns zunächst der Ruhlandschen<sup>4)</sup> Ultrafiltertheorie der Vitalfärbung zu. Nach dieser entscheidet über die Permeation eines Farbstoffes lediglich seine Teilchengröße; die Plasmahaut wäre also als eine Art Ultrafilter zu betrachten. Diese Theorie wurde auf Grund von Versuchen, die an ganz anderen Versuchsobjekten angestellt wurden, abgeleitet, und es liegt uns fern, unsere Resultate, die an Warmblütern gewonnen wurden, mit den Ruhlandschen vergleichen zu wollen. Wir müssen aber auf Grund unserer Versuche feststellen, daß wir zwischen Ausspülbarkeit eines Farbstoffes und seiner Teilchengröße nur insofern einen Zusammenhang feststellen konnten, daß die hochdispersen sauren Farbstoffe leichter ausgeschieden werden als die hochkolloidalen. Die basischen Farbstoffe werden alle ohne Unterschied ihrer Teilchengröße nicht ausgeschieden, sondern von den Geweben zurückgehalten. *Zweifelloos ist die Diffusibilität eines Stoffes nicht das einzige Moment, das seine Permeationsfähigkeit bestimmt.*

Das größte Interesse dürfte wohl die Lipoidtheorie beanspruchen, die in der ursprünglichen Overton'schen Form nicht mehr aufrecht erhalten wird und verschiedentlich modifiziert wurde<sup>5)</sup>. Trotzdem geben auch so entschiedene Gegner der Lipoidtheorie wie Ruhland zu, „daß die Möglichkeit nicht bestritten werden soll, daß in gewissen Fällen die in den Zellen zweifellos weit verbreiteten fettartigen Körper das Eindringen mancher Körper begünstigen bzw. hemmen können“. Andererseits leugnet auch Höber nicht, daß die große Frage des Zusammenhanges der Lipoidtheorie und der Vitalfärbung, die wir als Indikator für manche physikalisch-chemischen Vorgänge betrachten dürfen, noch nicht geklärt ist.

Insbesondere erregte das Verhalten einiger Farbstoffe, die sich von der Regel abweichend verhalten, berechtigtes Interesse. Im allgemeinen gelten nämlich die sauren Farbstoffe als lipoidunlöslich, cytophob, hingegen die basischen als lipoidlöslich, cytotrop. Als Ausnahme von

<sup>1)</sup> Höber, R.: Die phys. Chemie der Zellen u. der Gewebe, 6. Aufl. S. 388ff.

<sup>2)</sup> v. Tschermak, A.: Allg. Physiologie Bd. 1, S. 312ff., S. 554ff. 1924.

<sup>3)</sup> v. Möllendorf, W.: Ergebn. d. Physiol. 18, 141. 1920.

<sup>4)</sup> Ruhland, W.: Jahrb. f. wiss. Botan. 46. 1909; 54. 1914.

<sup>5)</sup> Nierenstein, E.: Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 179, 233. 1920.

dieser Regel nennt *Höber* (a. a. O., S. 434) das Tropeolin 00 und das Methylorange, die als Sulfosäurefarbstoffe lipoidlöslich und cytotrop sind; andererseits sind Methylengrün cryst. I, Methylgrün, Thionin und Methylenazur zwar basisch, doch lipoidunlöslich und cytophob. Wenn wir die Ausschüttelbarkeit mit einer Lecithin-Benzollösung prüfen, so finden wir nur das Methylgrün unlöslich. Es ist naheliegend, daß diese Farbstoffe dazu geeignet schienen, in der Frage, ob die Lipoidlöslichkeit oder ihr chemischer Charakter ihre Permeationsfähigkeit bestimmen, Aufklärung zu geben. Wir fanden es daher interessant, die letztgenannten Farbstoffe bezüglich ihrer Ausspülbarkeit zu prüfen. Wir untersuchten das Verhalten von Methylorange, Thionin und Methylgrün.

*Versuch 34.*

Es wird einer Maus 1 ccm einer 1 proz. *Methylorange* (Merck)-Lösung subcutan injiziert. 30 Minuten nachher Bauchspülung. Anfangs nur geringe *Rosafärbung* nach Ansäuerung,  $\frac{1}{2}$  Stunde später starke Farbstoffausscheidung. Die quantitative Bestimmung zeigt, daß in 2 $\frac{1}{2}$  Stunden 15% der injizierten Farbstoffmenge ausgeschieden wurde.

Tropeolin 00 konnte in einem analogen Versuch nicht ausgespült werden. Der Farbstoff löste sich in Wasser sehr schlecht. Ebenfalls farblos waren die Spülflüssigkeiten der mit Methylgrün und Thionin injizierten Tiere.

Die obigen Versuche führten zu einem bemerkenswerten Resultat: Das sulfosaure Methylorange konnte trotz seiner Lipoidlöslichkeit in großen Mengen ausgespült werden; demgegenüber haben wir vom lipoidunlöslichen basischen Thionin, wie auch vom Methylgrün in der Spülflüssigkeit nichts nachweisen können. Das würde also bedeuten, daß die Ausspülbarkeit resp. Permeationsfähigkeit jener Farbstoffe, bei denen das Verhältnis der Lipoidlöslichkeit zum chemischen Charakter von der Regel abweicht, sich nicht nach der Lipoidlöslichkeit, sondern nach dem chemischen Charakter richtet. (Nur das Tropeolin 00 verhielt sich anders, als es dieser Feststellung entsprechen würde.) Wir glauben daher, die Vermutung sei berechtigt, daß die übrigen Farbstoffe auch nicht wegen ihrer Lipoidlöslichkeit, sondern wegen ihres chemischen Charakters in die Zellen eindringen.

Es liegt uns fern, in einer so schwerwiegenden Frage, wie es die Lipoidtheorie ist, auf Grund unserer Farbstoffversuche ein endgültiges Urteil fällen zu wollen, doch müssen wir feststellen, daß unsere Farbstoffversuche mindestens mit der klassischen Lipoidtheorie nicht restlos in Einklang gebracht werden können. Das Verhalten von Methylorange, Thionin und Methylgrün war uns ein deutlicher Fingerzeig, unsere Versuche im Sinne von *Bethe* und *Rhode* fortzusetzen, die bei der Permeation der chemischen Beschaffenheit des Zellplasmas und des Außenmediums eine ausschlaggebende Rolle zuschreiben. Mit Rücksicht auf die Wichtigkeit ihrer Resultate sei kurz folgendes hervorgehoben: Die Versuche wurden mit alkalisierten resp. angesäuerten Fröschen angestellt,

bei denen künstlich durch Fütterung von Natriumbicarbonicum resp. Ac. boricum eine Verschiebung der Blutreaktion von  $C_H = 10^{-8,7}$  bis  $C_H = 10^{-4,2}$  erreicht wurde. *Rhode* stellte fest, daß beim angesäuerten Organismus die Resorption und die Exkretion saurer Farbstoffe beschleunigt, bei Alkalisierung des Organismus verzögert wird. Das Umgekehrte gilt für basische Farbstoffe. Selbst hochkolloidale basische und saure Farbstoffe werden resorbiert, wenn im Organismus eine basische resp. saure Reaktion herrscht. Im allgemeinen widersprechen diese Befunde der Lipoidtheorie nicht, denn die Lipoidlöslichkeit der sauren Farbstoffe nimmt, wenn sie aus saurer Lösung, und die der basischen Farbstoffe, wenn sie aus alkalischer Lösung ausgeschüttelt wird, zu. Kaum zu vereinbaren ist es jedoch mit der Lipoidtheorie, daß unter günstigen Umständen, durch Veränderung des Mediums Farbstoffe in die Zellen aufgenommen werden, die lipoidunlöslich sind (Cyanol und Ponceau R. 4 usw.). *Rhodes* Befunde sprechen andererseits entschieden gegen die Ultrafiltertheorie.

Nach diesen interessanten Ergebnissen von *Bethe* und *Rhode* schien es uns geboten, nachzuprüfen, ob es möglich ist, die Ausspülbarkeit von Farbstoffen durch Alkalisierung resp. Ansäuerung von Tieren zu beeinflussen. Es war nämlich von vornherein klar, daß, wenn es gelingt, das Eindringen der Farbstoffe in das Gewebe zu steigern, damit die Ausspülbarkeit abnehmen muß und umgekehrt. Unsere Versuche bestätigten unsere Voraussetzungen und bekräftigten damit zum Teil die Resultate von *Rhode*. Es wurde beim angesäuerten Frosch die sonst gute Ausspülbarkeit von sauren Farbstoffen verringert resp. aufgehoben.

#### Versuch 35.

Es wird 3 gleichgroßen Fröschen (K = Kontrolle 50 g, A = alkalisch 50 g, S = sauer 40,7 g) in den Lymphsack 1 ccm (bei „S“ 0,94 ccm) einer konzentrierten Fuchsin S-Lösung injiziert, nachdem eine Stunde vorher Tier „S“ eine Messerspitze Ac. boricum, Tier „A“ ebensoviel Natr. bicarbon. per os bekommt; „K“ bekommt gar nichts. 4 Stunden nach der Injektion wird den aufgespannten Tieren die Haut in der Mittellinie aufgeschnitten und an den beiden Bauchflanken je eine Kanüle in die Peritonealhöhle eingeführt. Bauchspülung mit Frosch-Ringer, wobei darauf geachtet wird, daß in der Zeiteinheit bei den 3 Fröschen gleiche Mengen durchfließen. Die in 3 Portionen aufgefangene Spülflüssigkeiten zeigen die in der Tabelle angegebene Farbabstufung. (Die ersten zwei Portionen von „K“ waren etwas blutig, so daß sie nicht genau verglichen werden konnten, die dritte Portion war jedoch klar.)

Tabelle 4.

	Tier S		Tier A		Kontrolle	
	Spülmenge	Farbintensität	Spülmenge	Farbintensität	Spülmenge	Farbintensität
1. Portion . . .	42	fast 0	20	++++	30	+++
2. „ . . .	50	fast 0	60	++++	40	+++
3. „ . . .	30	++	60	+++	40	++

Wir sehen also, daß beim alkalischen Frosch am meisten, beim sauren, zumindest anfangs, fast gar kein Farbstoff ausgeschieden wird, beim Kontrolltier etwas weniger als beim alkalischen. Die Sektion zeigt folgendes Verhalten der Organe nach Ansäuerung: Die Organe von „S“ sind knallrot, die von „K“ heller, die von „A“ blaßrosa. Besonders deutlich ist dieses Verhältnis am Magen und an der Serosa. Der obige Versuch wurde einigemal wiederholt und ergab sowohl mit Säurefuchsin wie mit Indigocarmin stets dieselben Resultate. Es soll nicht verschwiegen werden, daß die Parallelversuche mit basischen Farbstoffen den Resultaten mit sauren nicht entsprachen. Es wäre zu erwarten gewesen, daß es gelingt, durch Ansäuerung des Froschgewebes mittels Borsäurefütterung das Eindringen der basischen Farbstoffe in das Gewebe zu hemmen resp. dadurch ihre Ausspülbarkeit aus dem Blutkreislauf zu fördern. Es wurde in der oben beschriebenen Weise mit *Methylenblau*, *Methylviolett*, *Bismarckbraun* und *Brillantgrün* versucht, analoge Resultate wie bei den sauren Farbstoffen zu erzielen. Bei Methylenblau und Methylviolett war die Spülflüssigkeit sowohl beim alkalisierten wie beim sauren und normalen Frosch ungefärbt. Bei Brillantgrün und Bismarckbraun wechselten die Resultate.

Wir sehen aus diesen Versuchen, daß *dem chemischen Charakter bzw. Reaktionsweise der Farbstoffe eine ausschlaggebende Rolle für das Eindringen in das Gewebe und daher auch für die Ausspülbarkeit zukommt. Alle Versuchsergebnisse kann uns aber auch die Bethesche Affinitätstheorie nicht aufklären.*

Von der Voraussetzung ausgehend, daß saure Farbstoffe in ein saures, basische in ein basisches Medium leichter eindringen, machten wir eine größere Versuchsserie mit farbstoffinjizierten Mäusen (gleiche Versuchstechnik wie bisher), bei denen wir die *H-Ionenkonzentration der Spülflüssigkeiten änderten*, indem wir diesen geringe Säure- resp. Laugemengen zusetzten. Die Resultate dieser Spülungen waren nicht ganz eindeutig, darum soll von ihrer ausführlichen Mitteilung Abstand genommen werden. Im allgemeinen können wir doch sagen, daß es gelingt, durch Ansäuerung der Spülflüssigkeit (2 ccm n/5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf 100 ccm Ringer) den Austritt von basischen Farbstoffen in die Spülflüssigkeit zu erzwingen, während das mit Ringer und mit alkalisiertem Ringer gespülte Kontrolltier farblose Spülflüssigkeiten liefert. Wir sahen dies vielfach bei Safranin und bei Bismarckbraun. Setzen wir die Spülung bei einem bisher sauer gespülten Tier mit alkalischer Spülflüssigkeit fort, so hört die Farbstoffausscheidung allmählich auf, und umgekehrt: beim alkalisch gespülten setzt sie bei fortgesetzter saurer Spülung ein. Die Deutung dieser Versuche ist nicht einfach. Um eine Zellschädigung oder Reizung des Peritoneums handelt es sich wohl kaum. Wäre dies der Fall, so würde die Farbstoffausscheidung nach



Aussetzen der sauren Spülung nicht gleich aufhören. Es wäre denkbar, daß die Säure aus der Bauchhöhle resorbiert wird und daß dann analoge Verhältnisse geschaffen werden wie beim angesäuerten Frosch; die basischen Farbstoffe würden in das acidotische Gewebe schwerer eindringen, würden also im Blutkreislauf verbleiben und kämen auf diese Weise zur Ausscheidung. Nun widerspricht dies aber der Tatsache, daß Ansäuerung der Spülflüssigkeit auch die Ausscheidung der sauren Farbstoffe fördert, wie wir das wiederholt bei analogen Versuchen mit Tartracin, Brillanterocein und Fuchsin S gesehen haben. Wir müssen also eine einheitliche Erklärung dieser Versuchsergebnisse schuldig bleiben und uns mit der Feststellung begnügen, daß *durch eine Änderung der H-Ionenkonzentration der Spülflüssigkeit die Ausscheidung der sauren Farbstoffe beeinflusst, die der basischen erzwungen werden kann*. Es sei nur beispielsweise ein diesbezüglicher Versuch angeführt.

*Versuch 36.*

Um 3 Uhr bekommen 3 gleiche Mäuse von 20 g eine subcutane Injektion von je 1 ccm einer 1proz. *Safraninlösung*. Um 3 Uhr 30 Min. Rotausscheidung im Harn, um 4 Uhr 30 Min. Spülung mit Ringer, *angesäuertem* resp. *alkalisiertem Ringer* (2 ccm n/5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> resp. n/5 NaOH auf 100 ccm Ringer). Über die Farbstoffabgabe an die Spülflüssigkeit orientiert nachstehende Tabelle.

*Tabelle 5.*

Maus 1		Maus 2		Maus 3	
Reaktion der Spülflüssigkeit	Ausscheidung	Reaktion der Spülflüssigkeit	Ausscheidung	Reaktion der Spülflüssigkeit	Ausscheidung
sauer	0	alkalisch	0	neutral	0
sauer	+	alkalisch	0	neutral	0
sauer	+++	alkalisch	0	neutral	0
alkalisch	+			sauer	+
alkalisch	0			sauer	+
Spülmenge: 400 ccm		Spülmenge: 200 ccm		Spülmenge: 360 ccm	

Wir sehen, daß die Ansäuerung der Spülflüssigkeit sowohl bei Maus 1 wie bei Maus 3 die Farbstoffausscheidung fördert.

*c) Übersicht der Farbstoffversuche.*

Bevor wir die Ergebnisse unserer Farbenversuche zusammenfassen, wollen wir zunächst die Frage erörtern, welche Schlüsse wir aus dem Erscheinen eines Farbstoffes in der Spülflüssigkeit zu ziehen berechtigt sind. Wir haben bereits in der Einleitung darauf hingewiesen, daß für die Ausspülbarkeit eines Stoffes sein Gefälle Blut  $\rightleftharpoons$  Gewebe und Blut  $\rightleftharpoons$  Spülflüssigkeit in Betracht kommen, daß sich die Reaktionen dieser beiden Gleichgewichte einerseits an der großen angiozellulären, andererseits an der angio-peritonealen Grenzfläche abspielen. Die Vorgänge im angiozellulären System dürften schon wegen der be-

deutend größeren Berührungsfläche und der ihr zugehörenden Gewebsmengen — Ablagerungsgebiet — die Resultante der beiden Gleichgewichtsreaktionen bestimmen. Es bestehen für einen im Blute kreisenden Farbstoff drei Möglichkeiten: 1. er gelangt durch das angiocelluläre Membransystem in das Gewebe; 2. er kann die beiden Membransysteme nicht passieren, kreist daher im Blute; 3. er wird durch die angioperitoneale Membran in die Spülflüssigkeit ausgeschieden. Im Falle 1 kann der Farbstoff am Gewebe verankert werden oder er passiert das Gewebe ungehindert. Wir haben bisher aus dem Nichterscheinen eines Stoffes in der Spülflüssigkeit auf seine Verankerung am Gewebe geschlossen, ohne dafür den direkten Beweis geliefert zu haben, daß er nicht im Blute kreist. Nun haben *Krebs* und *Wittgenstein*<sup>1)</sup> nachgewiesen, daß die basischen Farbstoffe viel rascher aus dem Blutplasma verschwinden, als die sauren Farbstoffe. Der aus dem Blutkreislauf verschwundene Farbstoff kann nur am Gewebe verankert sein.

Wir können behaupten, daß jene Stoffe, die in der Spülflüssigkeit nicht erscheinen, dies deshalb nicht tun, weil sie vom Gewebe abgefangen, aus dem Blutkreislauf verschwinden. Es besteht zumindest die Wahrscheinlichkeit, wenn auch nicht ein zwingender Grund zur Annahme, daß ein Farbstoff, der die angiocelluläre Grenzmembran überschreitet, ebenso auch die angioperitoneale Membran passieren würde, wenn er nicht in den Zellen abgefangen würde. Für diese Auffassung spricht der Umstand, daß es uns beim nach *Bethe-Rohde* angesäuerten Frosch gelingt, die Ausspülbarkeit der sauren Farbstoffe durch Förderung ihrer Verankerung am angesäuerten Gewebe zu hemmen. So wie die sauren Farbstoffe von dem künstlich angesäuerten Gewebe festgehalten werden, so dürften die basischen Farbstoffe von dem normalerweise basischen Gewebe gebunden werden. Der umgekehrte Versuch mit basischen Farbstoffen fiel nicht konstant aus. Was für andere Momente hier mitspielen, entzieht sich unserer Beurteilung. Wir glauben nach dem Gesagten berechtigt zu sein, *aus der Ausspülbarkeit eines Körpers durch die Bauchspülflüssigkeit auf die Affinitätsverhältnisse im Organismus schließen zu dürfen.*

Unsere Versuchsanordnung gestattet es auch, zur Frage des Verhaltens der sauren Farbstoffe zur Zelle Stellung zu nehmen. Aus dem Umstand, daß die sauren Farbstoffe mit wenig Ausnahmen konstant in der Spülflüssigkeit erscheinen, können wir mit Sicherheit zwei Schlüsse ziehen: 1. daß sie vom Gewebe nicht restlos gebunden wurden, 2. daß sie die angioperitoneale Membran, die ja auch mindestens aus 2 Zellschichten besteht, passieren. Wenn die sauren Farbstoffe die Zellen der letzteren Membran passieren können, sehen wir gar keinen Grund, wes-

<sup>1)</sup> *Krebs, H. A.* und *A. Wittgenstein*: Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **212**, 268 u. 282. 1926.

halb sie andere Zellen nicht ebensogut passieren könnten. Der Unterschied gegenüber den basischen Farbstoffen dürfte nur der sein, daß sie durch das Protoplasma nicht gebunden werden. Dies stimmt auch mit den von *v. Möllendorf*<sup>1)</sup> erwähnten Versuchen kombinierter Färbung vollkommen überein. *M.* meint, daß zwischen den intracellulären Vorgängen bei der Vitalfärbung mit sauren und basischen Farbstoffen ein prinzipieller Unterschied besteht. Wenn man nämlich eine Zelle zuerst mit einem sauren und nachher mit einem basischen Farbstoff färbt, so mischen sich die beiden unter Niederschlagsbildung, als Zeichen dafür, daß der zuerst applizierte saure Farbstoff nicht gebunden war. Demgegenüber bewirkt umgekehrt der saure Farbstoff keine Umfärbung der basisch vorgefärbten Granula. „Man darf hieraus wohl den Schluß ziehen“, sagt *v. Möllendorf*, „daß die basischen Farbstoffe durch die Verankerung an die Zellgranula gebunden sind, während der saure Farbstoff trotz der Ablagerung seine Reaktionsfähigkeit behalten hat.“

Wenn bei den üblichen Vitalfärbungsversuchen der Nachweis des Eindringens der sauren Farbstoffe in die Zelle manche Schwierigkeiten bereitet, so bietet unsere Methode, bei der wir den durchgetretenen Farbstoff prüfen, den Vorteil der leichten Nachweisbarkeit.

Am Ende dieses Teiles möchten wir unsere Stellungnahme zum Permeabilitätsproblem folgendermaßen formulieren:

*Die Teilchengröße eines Farbstoffes ist nicht allein bestimmend für seine Permeationsfähigkeit. Nur innerhalb eines chemisch umschriebenen Rahmens kommt ihr eine Rolle zu.*

*Die Wichtigkeit der chemischen Relation zwischen Farbstoff und Zelle folgt sowohl aus den Versuchen mit Methylorange, Methylgrün, Thionin, wie aus denen an angesäuerten Fröschen. Allerdings ist das Verhalten der basischen Farbstoffe im angesäuerten Organismus einstweilen auch nach der Betheschen Theorie nicht geklärt.*

Es spielen scheinbar bei all diesen cellulären Vorgängen Momente mit, die wir heute noch nicht restlos übersehen und schematisieren können.

### **Versuche und Erörterungen über den Mechanismus des Durchgangsprozesses.**

Die ersten Arbeiten, die sich mit den Durchlässigkeitsverhältnissen der peritonealen Membran beschäftigen, sind älteren Datums. Unter anderen Autoren sei *Orlow*<sup>2)</sup> an dieser Stelle erwähnt. Dieser Vertreter der *Heidenhainschen* Schule injizierte Kochsalzlösungen in die Bauchhöhle von Hunden und fand im allgemeinen bei hypotonischen Lö-

<sup>1)</sup> *W. v. Möllendorf*: a. a. O.

<sup>2)</sup> *Orlow, W. N.*: Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 59, 170. 1895.

sungen eine Zunahme, bei hypertonen eine Abnahme der Salzkonzentration. Dieses, auf den ersten Augenblick den einfachsten osmotischen Erscheinungen analoge Verhalten erweist sich bei näherer Betrachtung als in etwas komplizierterem Lichte. So fand *Orlow* und in ziemlicher Übereinstimmung mit ihm bedeutend später *Putnam*, daß die einfache Überschreitung der isotonischen Grenze sowohl im positiven als im negativen Sinne noch gar nicht genügt, die absolute Menge der Flüssigkeit bzw. des Salzes in der Bauchhöhle zu erhöhen. Erst bei verhältnismäßig hohen (1,5proz. NaCl-Lösung) und bei niedrigen (0,4proz. NaCl-Lösung) Konzentrationen beobachteten die erwähnten Autoren absolute Vermehrung der applizierten Flüssigkeitsmenge. Die Erklärung ist unter Zuhilfenahme eines vitalen Faktors, nämlich der Resorption, relativ noch immer einfach: Der Organismus hat das Bestreben, den Inhalt der Bauchhöhle seinen Gewebssäften einzuverleiben, während die osmotischen Gesetze einen Ausgleich der Konzentrationsunterschiede zur Folge haben. So bezeichnen die oben angegebenen Konzentrationszahlen das Gleichgewicht zwischen den einander entgegengesetzt gerichteten Kräften. Die Behauptung *Orlows*, daß selbst hypotonische Lösungen unter Umständen (nach Zusatz von NaF) relative Volumzunahme der Peritoneumflüssigkeit verursachen, bietet in der Deutung weitere Schwierigkeiten. Wir sind vielleicht heute doch imstande, manche den einfachen osmotischen Gesetzen widersprechende Erscheinungen durch analoge Modellversuche dem Verständnis näherzubringen. Es sei an das Donnan'sche Gleichgewichtsgesetz oder an die Tatsache der negativen Osmose erinnert. Doch genügt uns zur Erklärung der angedeuteten Diskrepanzen eine einfachere Vorstellung, nämlich die Zuhilfenahme eines vitalen Faktors, der Reizwirkung. Dieser Faktor ist zweifellos in Betracht zu ziehen, denn das Bauchfell wird bei der peritonealen Spülung gereizt, das ist wohl keine Frage. Das Verhalten der Tiere, manche Sektionsbefunde (Erosionen des Peritoneums), weiter der Umstand, daß alle bereits erwähnten und noch zu erwähnenden Versuche nicht unerhebliche Eiweißausscheidungen zur Folge haben, sprechen dafür. (Auf Grund eines weiter unten ausführlicher zu besprechenden Versuches sind wir in der Lage, direkte Beweise anzuführen.) Der Umstand, daß das gereizte Bauchfell mit einer Exsudation antwortet, wirkt in der Deutung des Durchlässigkeitsmechanismus ungenau störend, weil wir nicht wissen, in welchem Maße diesem Faktor eine Bedeutung zugeschrieben werden soll: Wir kennen das Ausmaß seiner Wirkung nicht.

In letzter Zeit beschäftigten sich *Okuneff*<sup>1)</sup> und *Hara*<sup>2)</sup> mit der Resorption aus der Bauchhöhle. *Okuneff* konnte die Resorption von Trypanblau durch Zu-

<sup>1)</sup> S. auch *Okuneff*: Biochem. Zeitschr. 161 und 147.

<sup>2)</sup> *Hara*: Biochem. Zeitschr. 126.

satz von Säure und Alkali n/50, Campheröl beschleunigen, mit Äther verzögern. *Hara* untersuchte die Resorption aus der Bauchhöhle bei Lumbalanästhesie, Splanchnicusdurchtrennung, Lokalanästhesie, Aderlaß und fand, daß sie vom Ernährungszustand des Endothels abhängt.

Während sich die bisherigen Arbeiten mit dem Durchlässigkeitsproblem nur als Resorptionserscheinung befassen, beschreitet *Putnam*<sup>1)</sup> neue Bahnen und wählt den umgekehrten Prozeß als Gegenstand systematischer Studien. Seine Technik ist in den Hauptzügen mit der unsrigen identisch. Er applizierte parenteral einige Farbstoffe, verschiedene Salze (Jodsalze, Kaliumferrocyanid, Natriumsalicylat usw.) und untersuchte, welche von diesen Stoffen in der Spülflüssigkeit der Bauchhöhle erscheinen. Von den Farbstoffen erscheinen laut seiner Arbeit keine, die verabreichten Salze im allgemeinen alle in der Spülflüssigkeit. Bezüglich der Farbstofffrage begnügte er sich mit der einfachen Feststellung der obigen Tatsachen, denen unsere Ergebnisse teilweise widersprechen. Er untersuchte auch, welche Blutbestandteile in der Spülflüssigkeit nachweisbar sind, wobei er fand, daß das Peritoneum für Kochsalz, Traubenzucker und Harnstoff durchlässig, für Urate undurchlässig ist. Die durchgetretenen Stoffe bestimmt er quantitativ. Es zeigt sich dabei, daß die genannten Stoffe das Bestreben haben, die anfänglichen Konzentrationsunterschiede zwischen Blutplasma und Spülflüssigkeit im Sinne osmotischer Gesetze auszugleichen. Doch gibt der Autor die Möglichkeit des Durchtrittes von selbst corpusculären Elementen zu. Er spricht im allgemeinen von einer Diffusion. Nebenbei erwähnt er allerdings auch vitale Vorgänge.

*Putnams* Resultate ließen sich zum Teil auch durch exsudative Vorgänge erklären, und uns erscheint die kategorische Annahme eines Diffusionsvorganges willkürlich. Unseres Erachtens ist die Frage des Durchgangsmechanismus offen und lautet folgendermaßen: Ist der Permeationsvorgang gewisser Stoffe durch das Bauchfell bloß eine Erscheinungsform vitaler Vorgänge oder ist sie im wesentlichen ein physikalischer Prozeß, bei welchem das Peritoneum die Rolle einer passiven Membran spielt? Oder aber handelt es sich um ein Zusammenwirken beider Faktoren?

Um die Frage beantworten zu können, untersuchten wir das diesbezügliche Verhalten der toten Membran. Wir haben bereits (siehe Versuch 29) gesehen, daß eine Zeitlang nach Töten des Tieres die Farbstoffausscheidung, wenn auch in verringertem Maße, doch fortläuft. Doch besitzt der Versuch in der gegebenen Anordnung nur wenig Beweiskraft. Nach dem Tode wird das Gewebe durchlässig, sozusagen durchlöchert. Man könnte auch einwenden, daß das Peritoneum als

<sup>1)</sup> *Putnam*: Americ. Journ. of physiol. 63, p. 548. 1923.

mesenchymales Gewebe langsam abstirbt, und daß zur Zeit der Versuchsanordnung es an seinen vitalen Eigenschaften noch nicht alles eingebüßt hat. Immerhin war der Versuch angebracht, da *sein negativer Ausfall entschieden für einen vitalen Durchlässigkeitsmechanismus gesprochen hätte.*

In der weiteren Folge unserer Versuche gingen wir von der Überlegung aus, daß, wenn die Ausscheidung im wesentlichen einen exsudativen Vorgang darstellt, die ausgeschiedene Menge des verabreichten Stoffes durch erhöhte Reizwirkung gesteigert werden mü ß te. Wir nahmen zu unseren Versuchen 2 Kaninchen, von denen das eine zum Vergleich diente. Der applizierte Stoff war gewöhnlich ein Rhodansalz. Als Reizmomente kamen Hypertonie, erhöhte Temperatur und Änderung der H-Ionenkonzentration in Betracht. Wir wollen zugeben, daß alle diese Reize möglicherweise physikalische Zustandsänderungen der Membran zur Folge haben können. Dieser Umstand ist besonders in dem letzten Falle zu erwägen, wo die Möglichkeit einer evtl. Überschreitung des isoelektrischen Punktes der membranbildenden Eiweißsubstanzen stark in Betracht kommt. *Mond*<sup>1)</sup> hat an der Froschdarmwand, allerdings unter anderen Verhältnissen, durch Änderung der H-Ionenkonzentration Durchlässigkeitsänderungen erzielt. Diesen komplizierenden Faktor mußten wir in Kauf nehmen.

In einem Falle haben wir Essigsäure der Spülflüssigkeit zugesetzt (auf 450 cem Spülflüssigkeit 0,6 cem Essigsäure), im anderen Falle wurde die Spülflüssigkeit auf 49° C vorgewärmt — ohne ausschlaggebenden Effekt. Wir haben in diesen Versuchen gar keine oder höchstens eine unwesentliche Erhöhung der ausgeschiedenen Rhodanmengen beobachtet.

*Putnams* diesbezügliche Versuchsergebnisse stimmen mit den unsrigen überein. Er hat gleichfalls vergeblich versucht, durch Anwendung von Crotonöl, auch von mechanischen Reizen die Menge des in die Bauchhöhle ausgeschiedenen Stoffes zu erhöhen. *Die Ausscheidungsmenge erweist sich als gar nicht oder nur wenig abhängig von der Stärke der Reizung.* Immerhin ist es möglich, daß bereits die Spülflüssigkeit selbst als Fremdkörper einen Reiz ausübt, so daß eine weitere Reizung gar nicht mehr zur Geltung kommt. Ein weiterer Versuch brachte in dieser Frage Klärung.

Ein Stoff verteilt sich zwischen verschiedenen Lösungsmitteln, in denen er ungleich löslich ist, nach dem Löslichkeitskoeffizienten. Unser Lösungsmittel war bisher physiologische Kochsalzlösung. Wir nahmen nun in einem weiter unten beschriebenen Versuche Oleum sesami als Spülflüssigkeit, um zu sehen, in welcher Menge das injizierte Rhodansalz in das schlechtlösende Medium übergeht.

<sup>1)</sup> *Mond, R.:* Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 206, 172. 1924.

*Versuch 40.*

Es wird 2 ausgewachsenen, gleichgroßen Kaninchen je 0,3 g Ammonrhodanid in 10proz. Lösung subcutan injiziert. Tier A erhielt 350 ccm physiol. Kochsalzlösung, Tier B 350 ccm Öl. sesami intraperitoneal. 2½ Stunden post inj. werden beide Tiere durch Verbluten getötet. Bei „B“ wird das Öl durch eine kleine Öffnung aus der Bauchhöhle herausgelassen und diese mit 350 ccm physiol. Kochsalzlösung nachgespült. Beide Spülmengen werden miteinander gut durchgeschüttelt, um die durchgegangenen Rhodanammoniummengen in wässrige Lösung zu bekommen. Trennung der verschiedenen Flüssigkeiten mittels Schütteltrichters. Auch die Spülflüssigkeit von A wird aus der Bauchhöhle entfernt und zwecks gleichen Vorganges nachträglich mit Öl behandelt (ähnlich wie im Falle B). Es wird dann in beiden wässrigen Lösungen das durchgespülte Ammonrhodanid colorimetrisch bestimmt. Ergebnis: Die Lösung des Tieres A enthält bedeutend mehr Ammonrhodanid als die Lösung B.

Es konnten in der Spülflüssigkeit beider Tiere keine gleichen Mengen Ammonrhodanid gefunden werden, weil die injizierte Substanz in beiden Fällen von ungleichen Lösungskraften der verschiedenen Lösungsmittel aufgenommen wurde. *Der Ausscheidungsprozeß ist also vorwiegend von einfachen physikalischen Gesetzen abhängig. Immerhin soll das Reizmoment nicht außer acht gelassen werden.* Der vorliegende Versuch ist vielmehr ein direkter Beweis dafür, daß es, wenn auch nur in geringem Maße, doch tatsächlich mitspielt.

Die Beweiskette wäre geschlossen, wenn es uns gelingen würde, ein Lösungsmittel zu finden, in dem der auszuspülende Stoff besser löslich ist als in den Körperflüssigkeiten und wenn er in der Spülflüssigkeit der Bauchhöhle angereichert werden könnte.

Der Durchführung dieses Gedankens stellen sich, wie wir sehen werden, vorläufig beträchtliche Schwierigkeiten entgegen. Wir erinnern noch einmal an das schon bei der Behandlung der Farbstofffragen erwähnte Versuchsergebnis, nach welchem die Ausscheidungsgeschwindigkeit innerhalb der Gruppe der sauren Farbstoffe ihrer Teilchengröße proportional ist, was auch in den Rahmen der physikalischen Gesetze hineinpaßt. Auf Grund dieser Überlegungen und Versuchsergebnisse sehen wir uns veranlaßt, im Ausscheidungsprozeß bei Spülung der Bauchhöhle physikalischen Kräften die größere Rolle zuzuschreiben, während eine kleinere Rolle vitalen Kräften zufällt.

### **Versuche und Erörterungen über das Entgiftungsproblem.**

Schon *Putnam* empfiehlt in seiner Arbeit, die Durchlässigkeitsuntersuchungen, besonders in bezug auf Gifte, Toxine, zu erweitern. Der Gedanke ist naheliegend, die Durchlässigkeit des Peritoneums steht für viele Stoffe fest, daher ist es nicht einzusehen, warum kein praktischer Nutzen aus der evtl. Durchlässigkeit der Bauchmembran gezogen werden könnte. Der Vorschlag ist berechtigt. *Ganter* (siehe Einleitung) versuchte den Gedanken zu verwirklichen. Die Frage einer

praktischen Anwendbarkeit der Peritonealdurchlässigkeit ist also nicht von der Hand zu weisen. Ihre Lösung war das ursprüngliche Ziel unserer Arbeit, und obwohl wir durch neu auftauchende Probleme von dieser Richtung abgelenkt wurden, sind wir doch in der Lage, zu der Frage in mancher Hinsicht Stellung zu nehmen.

Wir wollen zunächst feststellen, welchen Prozentsatz der verabreichten Menge wir durch Ausspülung zurückgewinnen können. Zu diesem Zwecke dienten uns Farbstoffe, Rhodansalze und Äthylalkohol.

*Versuch.*

Ein Kaninchen (2 kg) erhielt 10 ccm 96proz. Alkohol subcutan, verdünnt mit physiol. Kochsalzlösung. Durchspülung über 2 Stunden. Das Tier verendet spontan. Die Spülflüssigkeit wird nach Ansäuerung mit etwas Weinsäure einer einfachen Destillation unterworfen, dasselbe geschieht mit dem Destillat mehrmals hintereinander. Die qualitative Alkoholprobe ist positiv. Im letzten Destillat wurde die Alkoholmenge auf refraktometrischem Wege bestimmt. Gefunden wurden 8% der verabreichten Menge. Der Geruch des Alkohols war jedoch im Destillat nicht deutlich wahrnehmbar. In Blindversuchen haben wir uns überzeugt, daß ein unbekannter Stoff von starkem Geruch in das Destillat übergeht, refraktometrisch aber nicht störend wirkt. Nach mehrtägigem Stehen verschwand dieser Geruch und dann war der Alkoholgeruch deutlich.

Die einzelnen Fälle ergaben ziemlich übereinstimmende Resultate. Wie wir festgestellt haben, kann in 4—5stündiger Durchspülung  $\frac{1}{10}$  bis  $\frac{1}{7}$  des verabreichten Stoffes aus dem Organismus entfernt werden. In einigen Fällen erschien noch weniger Alkohol in der Spülflüssigkeit. Der Unterschied hängt offenbar mit der raschen Verbrennung des Alkohols zusammen, die bei subletalen Dosen ziemlich groß ist. Unsere Angaben weichen nur in geringem Maße von denjenigen ab, die sich aus *Putnams* Analysenmaterial ableiten lassen.

In der Absicht, das *Putnamsche* Tatsachenmaterial zu ergänzen, bestimmten wir die Menge des durch das Peritoneum ausgeschiedenen Ca und P. Das Versuchstier war ein 2 kg großes Kaninchen, Spüldauer 2½ Stunden; 11 mg CaO resp. 10 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> wurden in der Spülflüssigkeit gefunden; Mg qualitativ positiv. (Methode: nach Verbrennung gravimetrische Bestimmung.) Es war nicht uninteressant, festzustellen, daß ebenfalls  $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{7}$  der im Blute in diffusiblem Zustande befindlichen Menge von Ca bzw. P ausspülbar ist.

Die Ausscheidungsmengen waren nicht vielversprechend.  $\frac{1}{10}$  ist zweifellos keine allzu große Menge und die dürfte in Entgiftungsfällen nur ausnahmsweise als Rettungsmoment entscheidend in die Wagschale fallen. Es sei denn, daß Dauerdurchspülungen längere Zeit gut vertragen werden. Zwecks Prüfung der Entgiftungsmöglichkeit wählten wir auch stärkere Gifte, wie BaCl<sub>2</sub> und Morphinum. Wir bekamen weder von Morphinum hydrochl. noch von BaCl<sub>2</sub> nachweisbare Mengen in die Spülflüssigkeit herein. Nachstehend die Protokolle.

*Versuch.*

Kaninchen im Gewicht von 1,8 kg, Injektion von 0,15 g BaCl<sub>2</sub> subcutan. Bald darauf 2 Stunden Durchspülung. Tier exitiert unter Krämpfen. Der Abdampf-



rückstand der gesammelten Spülflüssigkeit wird verkohlt, verbrannt bzw. aufgeschlossen. Der weitere Analysengang nach dem bekannten Lehrbuch von *Gadamer*. Resultat: qualitativ kein Ba.

*Versuch.*

2 kg schweres Kaninchen bekommt 0,2 g Morphinum hydrochloricum intravenös. Beginn der 2stündigen Bauchspülung 1 Stunde nach der Injektion. Die Aufnahme, Reinigung und Ausschüttelung nach den *Dragendorfschen* Prinzipien. Resultat: in der Spülflüssigkeit kein Morphinum nachweisbar.

Es wird noch untersucht, wie weit die Ausscheidungsmengen durch hypo- resp. hypertensive Spülflüssigkeit beeinflußt werden können, obzwar bezüglich jener Stoffe, die in der physiologischen Lösung nicht enthalten sind, von vornherein keine Unterschiede zu erwarten waren. Wir haben darauf schon bei der Besprechung der Vorschläge *Ganters* hingewiesen. Wiederum wurde die Erfahrung gemacht, daß durch Änderung der Salzkonzentration der Spülflüssigkeit (in gegebenen Fällen 0,45 bzw. 2,7% NaCl) *die Ausscheidungsmengen eines Giftes nicht wesentlich geändert werden können.*

Nun fragen wir, welche Schlüsse aus diesen Resultaten quoad Vergiftung zu ziehen sind?

Wir können jedenfalls so viel sagen, daß wir Hoffnung auf eine Entgiftung durch peritoneale Vitaldialyse nur in jenen Fällen haben können, in denen die Giftdosis die letale Grenze nicht allzusehr überschreitet. Weiter lehrt uns eine einfache Überlegung, daß eine weitere Bedingung des Entgiftungserfolges die Gegenwart des Giftes im Blutplasma in gelöster diffusibler Form ist. Das ist bei den Narkoticis der Fall. Diese müssen mehr oder weniger im Blutplasma löslich sein, denn von der im Blutplasma gelösten Menge hängt indirekt ihre Giftwirkung ab. Die Narkotica sollten also, so weit sie im Organismus nicht zerstört werden, theoretisch alle auswaschbar sein, da sie sowohl im Blutserum als auch in der Spülflüssigkeit löslich sind. Tatsächlich erwähnt *Putnam*, daß er bei in Äthernarkose durchgeführten Spülversuchen den Äther in der Spülflüssigkeit gerochen hat. Wir haben die Auswaschbarkeit für ein zweites Narkoticum, nämlich für Alkohol, in relativ erheblichem Maße nachgewiesen.

Andererseits haben wir, wie wir oben schon angegeben haben, das Bariumchlorid und Morphinum nicht ausspülen können. Die Ursache dieses negativen Resultates ist darin zu erblicken, daß beide Gifte im Organismus reichlich Gelegenheit haben, abgefangen zu werden. (Bei Morphinum sei noch hinzugefügt, daß wir zum Versuch nicht gerade das geeignetste Tier, sondern das gegen dieses Gift höchst widerstandsfähige Kaninchen benutzt haben.) Über die Frage, wie sich das Ergebnis der Ausspülung bei anderen Giften gestalten wird, können wir uns bei der heutigen dürftigen Kenntnis des Mechanismus ihrer Giftwirkung nicht einmal in Vermutungen einlassen. Weitere Arbeit ist notwendig,

um in einzelnen Fällen Klärung zu bringen. Wir wissen bereits, daß das Malachitgrün und die meistens giftigen basischen Farbstoffe im allgemeinen unawaschbar sind. Wir haben im ersten Teil der Arbeit als Ursache der Unauspülbarkeit dieser Farbstoffgruppe ihre Verankerung am Gewebe angegeben. Es sei hier nochmals auf das Gesagte auch in bezug auf Entgiftung hingewiesen.

Wir möchten hier noch einen speziellen Gedankengang zum Entgiftungsproblem erörtern, dessen systematische Befolgung in manchen Fällen vielleicht von Erfolg gekrönt sein könnte. Die Tatsache, daß viele Stoffe durch das Bauchfell in die Bauchhöhle diffundieren können, gibt uns die Möglichkeit einer Giftnanreicherung. Wenn wir ein geeignetes Lösungsmittel verwenden, in dem das diffusible Gift besser als in der Körperflüssigkeit löslich ist, so sollte eine Anreicherung des Giftes, in chemischer Sprache eine „Ausschüttelung“ möglich sein. Wir haben auf diese Eventualität schon oben hingewiesen und dort erwähnt, daß sich der praktischen Durchführung große Schwierigkeiten entgegenstellen. Die sog. „besseren“ Lösungsmittel der aliphatischen und aromatischen Reihe werden in den meisten Fällen starke Gifte sein. Wir brauchen z. B. einem Kaninchen bloß mit einer 2proz. Alkohollösung die Bauchhöhle, gar nicht übermäßig, zu füllen und die tödliche Dosis ist schon überschritten. Vielleicht wären in manchen Fällen unresorbierbare Ausschüttelungsmittel zu versuchen. Wir begnügen uns mit der bloßen Anführung dieser Möglichkeit; über ihre Auswertung muß das Experiment entscheiden.

Kehren wir noch einmal zum Alkohol zurück, der sich als relativ gut auswaschbar erwies. Von den übrigen Narkoticis haben wir nicht viel zu erwarten. Der Alkohol ist dank seiner relativ großen Wasserlöslichkeit auswaschbar; bei vielen anderen Narkoticis würde unsere Spülflüssigkeit im Kampfe um den zu lösenden Stoff mit den Körperlipoiden erheblich den kürzeren ziehen. (Natürlich wäre die quantitative Verfolgung der Ausscheidungsverhältnisse bei den übrigen Narkoticis nicht ohne Interesse gewesen, doch mußten wir im Laufe unserer Arbeit auf manche interessante Nebenaufgaben Verzicht leisten.) Der Alkohol verbrennt im Organismus, doch nimmt seine Verbrennbarkeit im Organismus bei Vergiftung stark ab, zweifellos ein Umstand, der die Entfernung des Giftes aus dem Körper noch wünschenswerter erscheinen läßt. Der Alkohol wird selbst von den Säufern relativ langsam eingenommen, und da der schwer Berauschte aus leicht ersichtlichen Gründen nicht mehr Alkohol zu sich zu nehmen imstande ist, dürfte die Schwellengrenze des Giftes selbst in den letal endenden Fällen nicht allzusehr überschritten sein. Die diesbezüglichen Vergiftungsfälle, die wir zu sehen Gelegenheit gehabt haben, endeten selten in stadio acutissimo letal, meist ging vielständiger, oft tagelanger Be-

täubungszustand dem Tode voran. Der Verlauf solcher Fälle bekräftigt uns in der Annahme, daß eine Verminderung des Alkoholgehaltes der Körperflüssigkeiten leicht hätte lebensrettend wirken können. — Alle diese Argumente genügen vielleicht und rechtfertigen unseren Vorschlag, daß die Entgiftungsversuche an diesem Punkte, nämlich bei Alkohol, fortgesetzt werden sollen. Selbstverständlich wäre es wünschenswert, wenn die Permeationsgeschwindigkeit erhöht werden könnte. Durch Reize gelingt dies, wie wir schon gesehen haben, nicht. In der Therapie wäre es sogar ein schwerer Kunstfehler. Die Tiere vertrugen Reizungsversuche im allgemeinen sehr schlecht.

Mit diesem praktischen Hinweis schließen wir unsere Betrachtungen über das Entgiftungsproblem. Was die Toxine anbelangt, wird der eine von uns in einer separaten Mitteilung berichten.

Wir haben gesehen, daß nur jene Stoffe durch die Spülung zur Ausscheidung gelangen, die am Zellprotoplasma des Gesamtorganismus nicht abgefangen bzw. verankert werden und daher im Blute kreisen. Wir glauben, daß wir nach den Erfahrungen, die wir an den Krystalloiden machten, unsere bezüglich der Farbstoffe geäußerte Ansicht auch auf alle anderen ausspülbaren Stoffe erweitern dürfen. In dieser Überzeugung bekräftigten uns auch unsere Toxinversuche. Wir wollen daher unsere bei den Farbstoffversuchen geäußerte Ansicht verallgemeinern, indem wir sagen, daß alle Stoffe, die im Blutplasma in gelöstem, diffusiblem Zustande verbleiben, bei der Ausspülungsprozedur in die Bauchhöhle gelangen. Vielleicht genügt das vorhandene Versuchsmaterial nicht, diese Ansicht in Form eines Gesetzes auszusprechen. Jedenfalls müssen wir betonen, daß wir bisher keine Tatsache gefunden haben, die unserer Ansicht widersprochen hätte.

Gründe, die wir schon im Abschnitt über das Verhalten der Farbstoffe angeführt haben, veranlaßten uns zu der Annahme der intracellularen Durchlässigkeit für die sauren Farbstoffe. Wenn wir diese Annahme auch für die übrigen, in derartigen Versuchen durchgehenden Stoffe erweitern (Krystalloide), so liegt uns fern, die Durchlässigkeit für diese Stoffe den in Betracht kommenden Körperzellen selbst unter den strengsten physiologischen Bedingungen zuzuschreiben. Wir sind uns dessen bewußt, daß der Eingriff, den wir in der Bauchhöhle vornehmen, unphysiologische Verhältnisse schafft, die eine Erhöhung der Bauchfelldurchlässigkeit zur Folge haben können. Mit diesem Faktor müssen wir rechnen, wenn wir in Betracht ziehen, daß die bloße Erregung eines Muskelnervenpräparates mit meßbaren Durchlässigkeitsänderungen einhergeht. Allerdings spricht andererseits die von uns oft gemachte Beobachtung, daß manche sauren Farbstoffe schon oft 8 Minuten nach subcutaner Applikation in der Bauchhöhle erscheinen, dafür, daß die Grenze der physiologischen Versuchsbedingungen nicht

allzusehr überschritten wurde. Wie dem auch sei, ist der Ausscheidungsprozeß hauptsächlich physikalischer Natur. Deswegen betrachten wir die Bezeichnung „Dialysator“ für das Peritoneum als gerechtfertigt.

Wir schließen unsere Betrachtungen mit der Bemerkung, daß wir im Rahmen dieser ersten Mitteilung nicht allen im Laufe unserer Arbeit auftauchenden Problemen gerecht werden konnten.

#### Zusammenfassung.

1. In Übereinstimmung mit anderen Autoren haben wir gefunden, daß das Peritoneum für eine Reihe von Stoffen bei der Durchspülung der Bauchhöhle durchlässig ist.

2. Von den untersuchten Farbstoffen erwiesen sich ausschließlich die sauren Farbstoffe als ausspülbar, die basischen Farbstoffe werden ohne Ausnahme vom Gewebe zurückgehalten.

3. Durch chemische Beeinflussung der Körperflüssigkeiten (nach *Rohde*) gelingt es, die Ausspülbarkeit der sauren Farbstoffe zu hemmen. Das Analoge gelingt von basischen Farbstoffen nicht. Die Ausspülbarkeit der basischen Farbstoffe kann durch Ansäuerung der Spülflüssigkeit erzwungen werden.

4. Die Ausspülbarkeit der sauren Farbstoffe ist ihrer Teilchengröße proportional.

5. Wir betrachten den Durchgangsprozeß in erster Linie als einen physikalischen Vorgang (Diffusion), wobei Vitalkräfte eine untergeordnete Rolle spielen.

6. Eine Vorbedingung der Ausspülbarkeit ist, daß sich der betreffende Stoff im Blute dauernd in gelöstem diffusiblem Zustande befindet.

7. Durch Anämisierung des Peritoneums kann der Diffusionsvorgang gehemmt werden.

8. Die praktische Anwendbarkeit der Vitaldialyse beschränkt sich auf einen engen Kreis. Der Versuch einer Ausspülung der cytotropen Stoffe verspricht wenig Erfolg.

Es ist uns eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. *A. Tschermak*, der uns die Ausführung der Arbeit an seinem Institute in liebenswürdigster Weise gestattete und uns dauernd unterstützte, unseren besten Dank auszusprechen.

---