

Virchows Archiv  
für  
pathologische Anatomie und Physiologie  
und für  
klinische Medizin.

Band 177. (Siebzehnte Folge Bd. VII.) Heft 1.

---

I.

**Autolyse und fettige Degeneration.**

(Aus der med. Univ.-Klinik zu Göttingen.)

Von

Priv.-Doz. Dr. Waldvogel,  
Oberarzt der Klinik.

---

Wenn ich meiner ersten Publikation<sup>1)</sup> über diesen Gegenstand die Überschrift gab „Die fettige Degeneration“, so tat ich das in der Annahme, daß der Vorgang der fettigen Degeneration im Organismus sein Ebenbild in der aseptischen Autolyse der Organe außerhalb des Körpers finden müsse. Man wird einwenden, daß gerade das, was allein die Autolyse vom Untergang der im lebenden Körper befindlichen Teile unterscheidet, die Zirkulation von so ausschlaggebender Bedeutung sei, daß eine direkte Übertragung der Befunde bei der Autolyse auf die bei der fettigen Metamorphose nicht angängig erscheinen kann. Allein bei sachlicher Erwägung der Verhältnisse muß man zu dem Resultat kommen, daß, wenn die Zelle zugrunde geht, die Zufuhr neuen Nährmaterials für sie ohne Bedeutung sein muß, daß also höchstens die bei dem Absterbe- prozesse des Protoplasmas entstehenden Produkte durch das Blut fortgeschafft und der Untersuchung entzogen werden können, daß somit wesentliche Unterschiede durch den Faktor der Zirkulation nicht bedingt sind. Gewiß muß die aseptische Auto-

<sup>1)</sup> Zentralblatt f. Stoffwechsel- u. Verdauungskrankheiten. 1903.

lyse vor allem, wie das auch Magnus Levy<sup>1)</sup> betont, ohne Zusatz chemischer Agentien vor sich gehen; ich komme bei der Besprechung der von mir angewandten Methodik auf diesen Punkt zurück.

Die chemische Untersuchung der den innewohnenden fermentativen Kräften überlassenen Organe ist nun, so viele Untersucher auch sich ihr gewidmet haben, in der Deutung der fettigen Degeneration durch die Auffindung neu entstandener Substanzen bislang nicht glücklich gewesen, die Autoren haben sich deswegen zum Teil auf die Seite derjenigen gestellt, welche die bislang meist nur anatomisch erwiesene Fettzunahme in degenerierten Organen mit einem Transport von außen in die durch den Zerfall entstandenen Lücken erklären. So ist es wohl zu verstehen, daß die anatomische Forschung in dieser Streitfrage eine solche Geltung erhalten konnte, wie sie sie in der Tat erlangt hat; so ist es gekommen, daß die chemische Untersuchung als nicht kompetent in dieser Sache angesehen wurde. Hatte indes die anatomische Untersuchung fettig entarteter Organe erwiesen, daß die Produkte derselben ungleichmäßig über das Organ verteilt waren, so konnte die chemische Untersuchung hierauf Rücksicht nehmen und gerade sie, ganze Organe verwertend, mußte imstande sein, da, wo das Mikroskop einen die fettige Degeneration erklärenden Befund nicht erheben konnte, die Lücke auszufüllen.

Warum tat sie das bislang nicht? Sie ist von der vorgefaßten Meinung ausgegangen, daß nur das als Fett oder vielmehr als Produkt der fettigen Degeneration anzusehen sei, was in Äther löslich ist; und doch, gerade die Erwägungen, daß die Eiweißkörper erst allmählich von ihren typischen Bestandteilen verlierend, fettähnliche Eigenschaften annehmen mußten, daß nicht mit einem Schlage heute reines Eiweiß, morgen die in Ätherlöslichen Substanzen aufgefunden werden könnten, hätten dazu führen müssen, vorwiegend den Substanzen volle Aufmerksamkeit zuzuwenden, welche in der Mitte zwischen diesen Endpunkten stehen. Solche Körper waren zumal infolge ausgiebiger chemischer Untersuchungen des Gehirns bekannt; das Protagon, das Jekorin enthalten noch P, S, N, Lecithin P

1) Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. 1902.

und N und haben andererseits fettähnliche Eigenschaften; schon zum Teil als Bestandteile der normalen Zelle erkannt, mußten diese Abbauprodukte gerade zunächst vom Tode der Zelle Zeugnis ablegen und zuerst gesucht werden. Daß ich sie gefunden habe, beruht außer auf meiner Extraktionstechnik wohl auch darauf, daß, indem ich die Organe auf Eis aufbewahrte, ich den Degenerationsprozeß auseinanderzog, während bei dem Aufenthalt im Brutofen die Endprodukte der Autolyse schneller erscheinen mußten. Auch ich habe dieselben natürlich gesucht; meine Resultate zeigen, daß auch sie, welche am Schluß der Autolyse den fast alleinigen Bestandteil des Äthers bilden, so quantitativ verändert sind, daß die Berechtigung, von einer fettigen Degeneration zu sprechen, absolut vorliegt.

Wenn man aber nach den Produkten des Zellzerfalls suchen wollte, welche noch eiweißähnlich, noch P, S, N enthaltend Übergangsstufen zwischen Fett und Eiweiß darstellen, so konnten die gebräuchlichen Extraktionsmethoden, die ja schließlich nur das Ätherlösliche bestimmten, nicht zum Ziele führen. Das Protagon ist in kaltem Äther kaum löslich, das Jekorin, welches von warmem Alkohol aufgenommen wird, geht nur wässerige Lösung ein, sobald der Alkohol verdunstet ist. Gießt man nun Äther auf den Alkoholrückstand, so kann man, wenn er viel Jekorin enthält, beobachten, wie die Masse, statt sich zu lösen, ganz hart wird. Über die Löslichkeit der Lecithine gehen die Ansichten noch auseinander, so gibt L. Hammarsten<sup>1)</sup> an, daß das Lecithin im trockenen Zustande eine wachsähnliche Masse darstellt, welche sich in Alkohol, besonders beim Erwärmen auf 40 bis 50°, löst, und welche auch von Äther, obwohl weniger leicht, gelöst wird. Wie wir bei der Betrachtung meiner an autolysierten Lebern gewonnenen Resultate sehen werden, tritt im späten Stadium kein Lecithin mehr in den Äther, wohl aber in den Alkohol.

Seit meiner ersten Publikation habe ich in autolysierten Lebern auch eine Vermehrung des Protagons gefunden und bin dann, die Untersuchungsmethode allmählich immer zweckentsprechender gestaltend, mit Dr. Tintemann<sup>2)</sup> daran gegangen,

<sup>1)</sup> Lehrbuch der physiol. Chemie, 1899, S. 106.

<sup>2)</sup> Zentralblatt für Pathologie und pathol. Anatomie, 1904, 3.

zu untersuchen, wie sich Protagon, Jekorin und Lecithin in Phosphorlebern verhalten. Wir haben gefunden, daß das Protagon und das Jekorin in den Lebern der mit P vergifteten Hunde ganz erheblich zunimmt, daß dagegen das Lecithin, dessen Zunahme in autolysierten Lebern ich zuerst nach einigen Befunden als wahrscheinlich annahm, eine Verminderung erfuhr. Da schon vor mir von Jakoby<sup>1)</sup> nachgewiesen war, daß der autolytische Prozeß durch P-Intoxikation beschleunigt wird, da das Lecithin bei langdauernder Autolyse ebenfalls stark abnimmt, so liegt der Gedanke nahe, daß in einem bestimmten Stadium der Phosphoreinwirkung das anfangs neugebildete Lecithin eine Zunahme nicht mehr erfährt und daß nun die Abnahme, welche das vorhandene Lecithin im Verlaufe der Autolyse bei der Phosphorvergiftung erleidet, deutlich hervortritt. Ich muß mich im Abschnitt „Lecithin“ eingehender über diesen Punkt auslassen und will an dieser Stelle nur betonen, daß es nach den Untersuchungen von Tintemann und mir, die wir demnächst eingehender publizieren müssen, gelungen ist, die Körper, welche in autolysierten Lebern eine Vermehrung erfahren, auch in großer Menge bei der Phosphorvergiftung wiederzufinden. Können sie bei der Autolyse nicht von außen in die Leber gelangt sein, so ist auch ein Transport derselben in die noch im Organismus befindliche, durch Phosphor zum Absterben gebrachte Leber unwahrscheinlich. Ob wir das Organ durch Herausnahme aus dem Körper, ob durch Vergiftung, z. B. mit Phosphor, mit Bakteriengiften, zum Absterben bringen, die dem Protoplasma innewohnenden fermentativen Kräfte zeugen dieselben Substanzen; das Eiweiß allmählich abbauend, schaffen sie Übergangsstufen zwischen Eiweiß und Fett, und erzeugen eine Vermehrung von Cholesterin, Fettsäuren und Neutralfetten.

Auch auf die eben genannten Körper beziehen sich meine Untersuchungen an den autolysierten Lebern und, während man vor mir wohl von einer Alteration des Ätherlöslichen gesprochen hatte, konnte ich durch Zerlegung des Ätherrückstandes in seine Bestandteile Resultate fördern, welche von Bedeutung

<sup>1)</sup> Zeitschrift für physiol. Chemie, 1900, Bd. 30.

zu werden versprechen. Ja, nach lange genug ausgedehnter Autolyse findet sich auch eine deutliche Vermehrung des Wassers.

Können wir so dem pathologischen Anatomen Befunde bieten, welche den Namen der fettigen Degeneration rechtfertigen, so kann derselbe andererseits verlangen, daß, wenn wir die bei der Autolyse gefundenen Resultate auf das im Körper zu-grunde gehende Organ übertragen, die Veränderungen, welche dem Anatomen als Zeichen der fettigen Degeneration gelten, auch im Verlaufe der Autolyse auftreten. Er wird erwarten, daß die Menge der mit Osmiumsäure färbbaren Tröpfchen in autolysierten Organen so groß sei, wie in degenerierten, daß die Verteilung derselben ähnlich ist, daß die Reagentien, welche bei der anatomischen Untersuchung verwandt werden, mit gleichem Resultat auch auf die in den autolysierten Lebern z. B. hervor-tretenden Produkte wirken. Herr Dr. Tintemann und ich haben uns auch in dieser Richtung bemüht, und wenn auch die Untersuchungen noch nicht zum Abschluß gebracht sind, so läßt sich doch schon einiges beibringen. So wird z. B. ein Blick auf die Mikrophotographien einer 103 Tage autolysierten Leber die Dichtigkeit und Menge der mit Osmiumsäure färb-baren Degenerationsprodukte erkennen lassen, welche besonders gehäuft die Gefäße bedecken, während eine völlig freie Zone das Gefäß umgibt. Ähnliche Bilder erhält man auch bei der Phosphorvergiftung, sie scheinen nicht gerade für ein Aus-wandern des Fettes aus den Gefäßen zu sprechen.

Wenn nun das Resultat meiner Untersuchungen feststellt, daß das Gemisch einer ganzen Reihe von Körpern, welche chemisch teils dem Eiweiß, teils den Fettstoffen angehören, während der fettigen Degeneration auftritt, und wenn man erwägt, daß diese Körper sich gegenüber den verschiedenen Reagentien und Farbstoffen verschieden verhalten, so ist es ver-ständlich, was lange bekannt ist, daß wir mit Hilfe letzterer nicht die fettige Degeneration erkennen können. Da in den verschiedenen Stadien der Autolyse nicht dieselben Körper vor-handnen sind, da die einen schwinden, die andern auftreten, so kann erst eine systematische Vergleichung der in verschiedenen Zeiten aufgefundenen autolytisch entstandenen Degenerations-produkte mit der Wirkung der verschiedenen Reagentien, Säuren,

Alkalien, Äther, Chloroform, Osmiumsäure und Farbstoffe, wie Sudan III, Scharlach, entscheiden, ob wir imstande sind, verschiedene Stadien der Degeneration mit Hülfe der angegebenen Mittel zu erkennen. Das erste, vorwiegend durch die Neubildung des Protagons und Jekorins charakterisierte Stadium muß

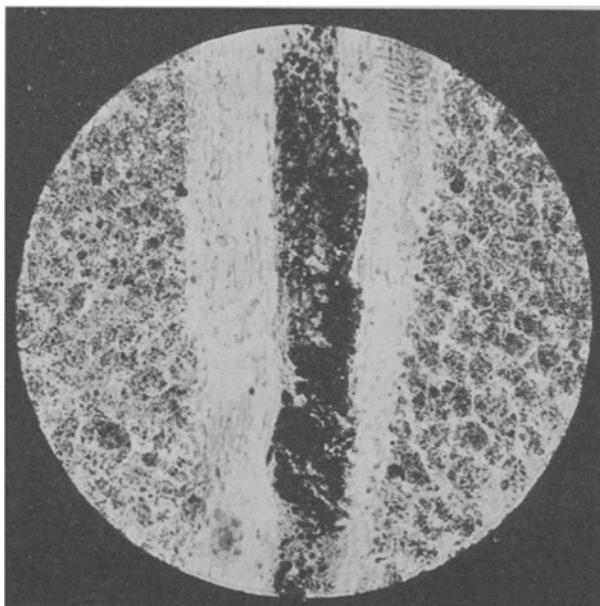


Fig. 1. Vergr. 508fach.

sich anders verhalten als das, in dem Lecithin, Protagon und Jekorin abnehmen oder verschwunden sind. Mikroskopisch wird man dem Auftreten der einzelnen Körper nicht folgen können, aber immerhin ist es von Bedeutung, die anatomischen Befunde zu erheben und die Prüfung mit Reagentien an autolysierten Organen vorzunehmen, damit auch so der autolytische Prozeß mit dem im Körper sich vollziehenden verglichen werden kann. Über das Stadium der degenerativen Vorgänge — das wird aus meinen Darlegungen einleuchten — kann nur die chemische Untersuchung entscheiden. Man wird aus den nachstehenden Befunden entnehmen, daß auch bei der Autolyse schon früh Körnchen und Tröpfchen auftreten, daß

diese resistent sind gegen dünne Lauge und dünne Säuren, daß Chloroform und Äther dieselben lösen. Die Sudanfärbung ist bei einer fünf Monate autolysierten Leber nicht erzielt; dagegen gelang früh die Färbung mit Osmiumsäure. Ich gebe die nachstehenden Befunde mit dem Bemerkten, daß sie der

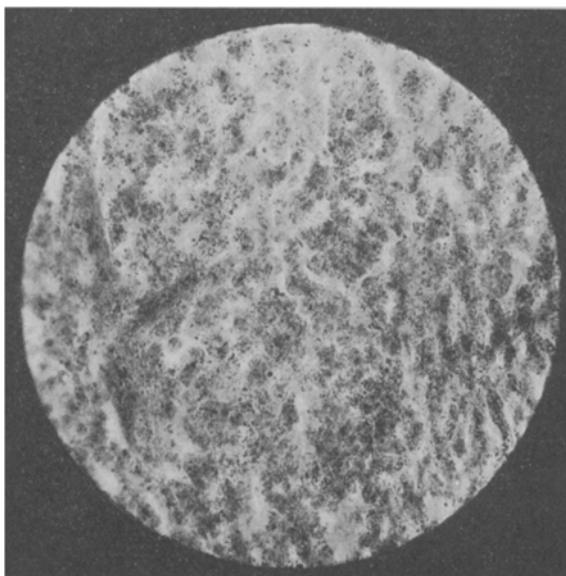


Fig. 2. Vergr. 385 fach.

Ergänzung noch sehr bedürfen und von uns vervollständigt werden. Inzwischen haben auch Dietrich und Hegler<sup>1)</sup> bestätigt, daß man in bestimmten Stadien der Autolyse mit den Bildern der fettigen Degeneration weitgehende Ähnlichkeit erhält.

1. Leber, 8 Tage autolysiert. Zellgrenzen und Kerne erkennbar, in den Zellen viele feine Körnchen. Daneben in und außerhalb der Zellen Tröpfchen, von verschiedener Größe, leicht gelblich, welche sich nicht in Essigsäure und Natronlauge lösen, auch die Körnchen verschwinden bei Zusatz 2prozentiger Essigsäure nicht.

2. Leber, 24 Tage autolysiert. Zellgrenzen deutlich, Kern noch eben zu erkennen, Zellen vollgestopft mit dunkelkonturierten Tröpfchen verschiedener Größe, Gefäße mit dicht aneinander gereihten Tröpfchen aus-

<sup>1)</sup> Arb. a. d. Pathol. Inst. z. Tübingen, Bd. IV, S. 3.

gefüllt. Die Tröpfchen lösen sich nicht in Essigsäure und Natronlauge, dagegen in Chloroform, doch bleiben dunklere Tropfen ungelöst. Nach Härtung und Färbung in Flemmingscher Lösung und 24 stündigem Wässern sieht man in allen Zellen kleine, schwarze Körnchen, etwa 3—5.

3. Leber, 44 Tage autolysiert (Herr Prof. Aschoff). Das übersandte Stück Leber ist außerordentlich weich, fast lehmartig, wie bei akuter gelber Leberatrophie. Das Messer klebt beim Schneiden, Schnitte sind nur mit Mühe zu gewinnen. Mikroskopisch ist die gröbere Leberstruktur völlig gewahrt, die Zellen stellen kleine grobkörnige oder aus kleinsten Bröckeln bestehende, im ganzen polymorphe, höchst unregelmäßig zackig begrenzte Gebilde dar, in denen oder an deren Oberfläche feine, kurze, leicht gekrümmte, oft mehrfach büschelförmig zusammenliegende Kristalle zu sehen sind; dieselben liegen auch frei zwischen den Zellen.

4. Leber, 77 Tage autolysiert. Frische Gefrier-Mikrotomschnitte in Glycerin. Zellgrenzen verschwunden, grobes Gefüge deutlich. Neben Tyrosinnadeln braune Massen polarisierend vorwiegend an den Gefäßen entlang, daneben nicht polarisierende, runden Tröpfchen gleichende, braune Gebilde. Bei Essigsäurezusatz keine Lösung, doch treten kleine „Myelin-tropfen“ auf. Starke Osmiumfärbung an gehärteten Schnitten.

5. Leber, 87 Tage autolysiert. Gefriermikrotomschnitt in Glycerin. Zellgrenzen nicht zu erkennen, überall zerstreut einzelne kleine bräunliche amorphe Massen von verschiedener Größe, einzelne größere Haufen von braunen Körnern, zum Teil rundlich, zum Teil unregelmäßig begrenzt, zum Teil polarisierend.

6. Leber, 5 Monate autolysiert (Herr Dr. Küster). Vom Gefüge des Organs fast nichts mehr zu erkennen, die Leberzellen bilden eine körnige, trübe Masse, die Trübung hält sich bei Essigsäurezusatz vollkommen auf, nur hier und da findet sich ein einzelnes, als Fett vielleicht anzusprechendes Tröpfchen. Färbung mit Sudan III wird an keiner Stelle angenommen.

Da die bisher geübte Methodik der Untersuchung autolysierter Lebern zur Deutung des Wesens der fettigen Degeneration bislang so wenig beigetragen, da gerade die von mir befolgte Technik eine so reiche Ausbeute liefert hat, wird es zunächst darauf ankommen, dieselbe eingehender zu schildern.

Die Lebern werden Hunden, nachdem sie völlig ausgeblutet sind, steril entnommen, die eine Hälfte sofort verarbeitet, die andere in vorher durch trockene Hitze sterilisierte Glasgefäße gelegt, wobei darauf zu achten ist, daß kein Blut mit hineingebracht wird. Diese Glasgefäße werden zu-paraffiniert und im Eisschrank aufbewahrt.

Beim Eröffnen der Gefäße findet man die Lebern, besonders wenn sie lange Zeit der Autolyse überlassen sind, häufig von großen Mengen Flüssigkeit umgeben. Schon das Aussehen dieser läßt häufig keinen Zweifel darüber, daß sie kein Blut ist; sie erscheint wässrig, klar, braun. Ihre Menge betrug in einem Falle, als ich sie genauer untersuchte, bei 39,8 g

Lebersubstanz 16 ccm und durch Fällung mit Aceton, Wiederauflösen des Niederschlages in Wasser und Verdunsten desselben konnte ich 1,28 g Jekorin aus ihr darstellen. In dem Abschnitte über Gewinnung und Größe der Jekorinmengen wird man begründet finden, weshalb ich diese aus der Flüssigkeit so gewonnene Substanz als Jekorin bezeichnen darf. Man sieht aus diesen Zahlen, daß die über der autolysierten Leber stehende Flüssigkeit keineswegs vernachlässigt werden darf, wenn es gilt, eine exakte Bestimmung der bei der Autolyse vorkommenden Substanzen auszuführen, und ich schlage daher vor, nach Messung der Flüssigkeit sie bei 50° auf ein kleines Volumen einzudunsten, dann etwa das vierfache an Aceton zuzusetzen und den Niederschlag gut absitzen zu lassen. Man kann dann ohne großen Verlust die überstehende Flüssigkeit abgießen, da am Boden sich meist das sehr klebrige Jekorin befindet. Nachdem der Rückstand noch durch Einwirkung eines Gebläses und Erwärmung auf 50—60° im Wasserbade von Aceton befreit ist, gießt man Äther auf ihn; dieser nimmt etwas mit ausgefälltes Lecithin auf, welches später mit bestimmt und in Rechnung gezogen wird, und zum Schluß Wasser. In diesem löst sich dann der ganze Rückstand wieder, man dunstet bei 50° das Wasser ab, hebt bis zur Gewichtskonstanz im Exsikkator auf und erhält so die Menge des in die Flüssigkeit übergetretenen Jekorins.

Natürlich nimmt man sofort nach der Eröffnung der Glasgefäße die bakteriologische Untersuchung vor. Sie beruhigt uns darüber, daß Bakterien bei der Autolyse nicht im Spiel waren, mehr wissenschaftlich, in Wirklichkeit wird Nase und Auge die Diagnose der Bakterienwirkung schneller und ebenso sicher stellen, der Lebergeruch muß noch unverkennbar sein. Und ob wirklich in den langen Zeiten, auf die ich die Autolyse ausdehnte, — meine ältesten Präparate stehen jetzt über ein Jahr im Eisschrank — Bakterien mitgewirkt haben, darüber würden Auge und Nase, wenn sie alles in Ordnung finden, ein richtigeres Urteil abgeben, als die Bouillonkultur, in der sich ein Bacillus, der keine Wirkung auf die Leber ausübte, bei 37° aufs äußerste vermehrt hat. Das klingt unbakteriologisch, läßt sich aber meines Erachtens nicht zurückweisen.

Einen großen Teil meiner Untersuchungen habe ich mit der Rosenfeldschen<sup>1)</sup> Extraktionsmethode ausgeführt und ich muß anerkennen, daß sie mir zuerst den Weg gewiesen hat, der mich zum Ziele führte. Sie zeigte, daß, um es kurz zu sagen — betreffs der Einzelheiten muß ich auf das Original verweisen —, während bei normalen Lebern der Alkohol und Chloroformrückstand zum größten Teil wieder in Äther in Lösung geht, bei dem autolysierten Organ die Differenz zwischen der durch Alkohol und Chloroform extrahierten, viel größeren Masse und dem nachher in Äther Übergehenden eine weit erheblichere war, ja daß oft (siehe die Zahlen auf S. 13f., hinter denen ein R steht) nicht die Hälfte dessen in Äther überging, was nach Verdunsten des Alkohols und Chloroforms zurückblieb. Später, als ich die Natur der Substanzen, welche bei der Autolyse entstehen,

1) Zentralblatt für innere Medizin, 1900.

immer mehr erkannte, als ich einsah, daß gerade die in Alkohol gelösten, nicht in Äther übergehenden Massen charakteristisch für das Wesen der Autolyse sind, als es darauf ankam, die bei autolysierten Lebern das Plus des Alkoholauszuges ausmachenden Körper einzeln zu bestimmen, die Ätherextrakte zu zerlegen, haben wir die Rosenfeldsche Methode verlassen müssen, doch ist sie zur kurzen Nachprüfung der eben angegebenen Resultate noch durchaus empfehlenswert. Aber wir dürfen eine Reihe von Bedenken gegenüber dieser Methode nicht unterdrücken. Zunächst wissen wir, daß die Lecithine in konzentrierter alkoholischer Lösung sich beim Erwärmen zersetzen, man erkennt das an der Dunkelfärbung des Alkohols bei autolysierten Lebern. Ferner verarbeitet Rosenfeld im Trockenschrank — die Temperatur ist nicht angegeben — getrocknetes Material. Da bei der Autolyse eine starke Säurebildung stattfindet, kann der Einspruch erhoben werden, daß unter dem Einfluß dieser Säuren, von deren Vorhandensein uns schon das Eintauchen von Lackmuspapier in die die Leber bedeckende Flüssigkeit unterrichtet, bei hoher Temperatur erst die von mir gefundenen Körper, Protagon, Jekorin usw. abgespalten werden. Ich bin daher mit der Temperatur, bei der das Trocknen der zerkleinerten Organe vor sich geht, immer mehr heruntergegangen und habe in letzter Zeit trocknes Pulver oft durch 48 stündigen Aufenthalt im Trockenofen bei 55—58° erzielt.

Doch auch das beruhigte mich nicht, und so verarbeitete ich die Organe ungetrocknet, das Wasser bei der erstmaligen Extraktion mit absolutem Alkohol größtenteils entfernd. Ich habe so den Vorteil, daß ich, da ja zunächst mit verdünntem, etwa 85prozentigem Alkohol extrahiert wird, vielmehr Lecithin bekomme, als bei Verwendung absoluten Alkohols. Das Protagon aber geht kaum in den verdünnten Alkohol über und so wird eine zweite Extraktion mit absolutem Alkohol angeschlossen. Bei der ersten Extraktion wird das Vierfache der Organmenge an Alkohol verwandt, bei der zweiten das Doppelte, die Temperatur beträgt 50°, es wird gerührt, und jedesmal dauert die Extraktion drei Stunden.

Ein Nachteil haftet der Verarbeitung ungetrockneter Organe an, das ist das lange Verweilen des Rückstandes im Exsikkator, ehe Gewichtskonstanz erzielt wird. So betrug die Abnahme des Alkoholrückstandes nach Extraktion von 36 g feuchter, 19 Tage autolysierter Leber am 1. Tage 0,241, am 2. 0,074, am 3. 0,036, am 4. 0,030, am 5. 0,016, am 6. 0,009, bis am 7. Tage das Gewicht 3,572 nur um 5 mg von dem am 6. differierte. Wir können in Anbetracht der großen Mengen des Alkoholrückstandes und da es sich um Vergleichsbestimmungen handelt, nur die Verluste in den ersten 8 Tagen als erheblich ansehen und würden also vorschlagen, auf diese Zeit den Aufenthalt des Rückstandes im Exsikkator zu bemessen. Bei Verarbeitung größerer Massen ist natürlich die Wassermenge entsprechend größer, ich habe dann zeitweilig 14 Tage lang und länger bis zur Gewichtskonstanz wägen müssen. Wer exakt vorgehen will, muß natürlich die Gewichtskonstanz abwarten. Es fragt sich, ob es denn in

Anbetracht dieses Zeitverlustes absolut nötig ist, feuchte Organe zu verarbeiten. In dieser Beziehung kann ich vorläufig aussagen, daß qualitative Differenzen zwischen den aus feuchten und getrockneten Organen gewonnenen Alkoholextrakten nicht bestehen, daß quantitative Bestimmungen für die Verwendung feuchter Organe sprechen, weil die Ausbeute an Protagon, Jekorin und Lecithin größer ist. Ich habe in meiner Tabelle (S. 13f.) die Methodik kurz hinter den Zahlen vermerkt und man wird erkennen, daß jede Methode den deutlichen Unterschied zwischen normalen und autolysierten Organen erkennen läßt, daß die nach Rosenfelds Verfahren gewonnenen Zahlen hinter den auf andere Weise festgestellten zurückbleiben und daß auch die Verarbeitung getrockneter Organe bei geeigneter Extraktion, vor allem bei feiner Pulverisierung, gute Resultate gibt.

Betreffs der Temperatur, bei der die Extraktion mit Alkohol vorgenommen wird, bieten sich uns zwei Anhaltspunkte. Einmal darf diese alkoholische Lecithinlösung nicht über 60° erwärmt werden, damit wir Zersetzung den Lecithins vermeiden, zweitens gewinnen wir aus den folgenden Tabellen den Eindruck, daß die Fortsetzung der Extraktion über 60° Unterschiede zwischen den Alkoholrückständen autolysierter und normaler Lebern nicht mehr erkennen läßt. Es wurden 5 g trockenen Leberpulvers zunächst bei 40, dann bei 60, schließlich bei 80° je 1½ Stunden mit 100 ccm absoluten Alkohols extrahiert.

	Autolysierte	Normale Leber
1. Ausfall nach Abkühlen des Alkohols	auf Eis	
bei 40° 0,043		0,004
„ 60° 0,029	0,082 g	0,0
„ 80° 0,010		0,0
2. Alkoholrückstand		
bei 40° 1,525		0,312
„ 60° 0,474	2,303 g	0,234
„ 80° 0,304		0,294
3. Davon ätherlöslich		
bei 40° 0,365		0,200
„ 60° 0,072	0,458 g	0,108
„ 80° 0,021		0,194

Im folgenden Versuch wurden wiederum 5 g eines anderen Leberpulvers verarbeitet, es ergab sich

	Autolysierte	Normale Leber
1. Menge des bei Abkühlung des Alkohols Ausgefallenen		
bei 40° 0,014		0,006
„ 60° 0,003	0,017 g	0,0
2. Alkoholrückstand		
bei 40° 1,037		0,523
„ 60° 0,354	1,391 g	0,759
		0,236

## 3. Davon ätherlöslich

bei $40^{\circ}$	0,593	0,668 g	0,502	0,718 g
„ $60^{\circ}$	0,075		0,216	

Man ersieht aus diesen Zahlen, daß für unsere Zwecke die Extraktion zwischen 50 und  $60^{\circ}$  günstig ist. Als bemerkenswert verdient hervorgehoben zu werden, daß das Ätherlösliche des Alkoholextrakts der normalen Leber bei höheren Graden ( $60$ ,  $80^{\circ}$ ) größer ist als das, was vom Alkoholrückstand der autolysierten Lebern in Äther übergeht.

Entschließt man sich, die Organe feucht zu extrahieren, so muß ein Teil — ich nahm gewöhnlich 5—10 g — zur Bestimmung des Wassergehaltes getrocknet werden. Diese Trocknung ist meist nach 48 stündigem Aufenthalt im Trockenofen bei  $55$ — $60^{\circ}$  beendet; und man bestimmt den Gewichtsverlust. Ich habe bei meinen ersten Bestimmungen die überstehende Flüssigkeit einfach nach Beendigung der Autolyse abgegossen, das ist, wie ich oben ausgeführt habe, verkehrt. Eine andere Frage ist, wie man mit den Leucin- und Tyrosinkristallen, die sich etwa nach vierwöchiger Autolyse auf Eis in großen Mengen an den freiliegenden Leberteilen bilden, verfahren soll. Da sie Umwandlungsprodukte der Lebersubstanz sind, habe ich sie mitgetrocknet und in der Mühle zerkleinert. Ein Teil der Kristalle sitzt am Glase oder schwimmt in der Flüssigkeit. Da ich quantitativ das Leucin und Tyrosin nicht bestimmt habe, ließ ich die Kristalle da, wo sie sich befanden, ohne sie bei Bestimmung des Wassergehaltes zu berücksichtigen.

Nach Beendigung der Extraktion mit Alkohol werden die Auszüge 24 Stunden in den Eisschrank gestellt, und nun fallen neben Protagon und Salzen nur Substanzen aus, welche in Äther löslich sind. Die Abtrennung des Protagons geschieht dann so, daß man nach Abfiltrieren des Ausgefallenen Filter und Schalen, in denen das Ausgefallene ziemlich stark haftet, mit  $50^{\circ}$  warmem Alkohol übergießt und diesen Alkohol wieder 24 Stunden auf Eis stellt. Nach dem Übergießen mit warmem Alkohol löst man das in Filter und Schalen Gebliebene mit Äther, was leicht gelingt, und behält dann Spuren von Salzen übrig, die in Wasser nicht löslich sind. Der Äther wird aufgehoben und später dem Äther hinzugefügt, welcher das aufgenommen hat, was vom Alkoholrückstand in ihm löslich ist. Während die alkoholische Lösung des Protagons auf Eis steht, das Protagon wieder ausfällt, wird der ganze zur ersten und zweiten Extraktion verwandte Alkohol bei  $50^{\circ}$  eingedampft, der zur Lösung des Protagons benutzte Alkohol zugefügt und der Rückstand im Exsikkator getrocknet. Ist der Alkoholrückstand trocken, so wird er in der Schale nacheinander mit Äther, Alkohol und Wasser extrahiert. Die durch solche Zerlegung des Alkoholrückstandes gewonnenen Resultate, sowie die Methodik, welche zur Differenzierung des Ätherlöslichen dient, findet man bei Besprechung der einzelnen gewonnenen Körper.

Ich gebe jetzt, damit eine schnelle Orientierung möglich ist, meine sämtlichen bislang gewonnenen Ergebnisse in Form

der nachstehenden Tabelle. Zum Verständnis ist folgendes zu bemerken: Ein R hinter den Zahlen des Alkoholextrakts bedeutet, daß Rosenfelds Methode der Extraktion verwandt wurde. Diesen Zahlen ist eine Klammer beigefügt, welche Angaben über das durch Chloroform Extrahierte enthält, so (Chlor. + 2,28). Die uneingecklammerten Zahlen vor den Gewichtsangaben beziehen sich auf die laufende Nummer der Leber, wobei darauf Bedacht genommen wurde, daß, wenn eine Leber einmal frisch und zugleich autolysiert untersucht ist, sie die gleichen laufenden Nummern erhielten. Ist dieselbe in verschiedenen Zeiten der Autolyse extrahiert, so ist die laufende Nummer der normalen und schon einmal autolysiert untersuchten Portion in einer eckigen Klammer beigefügt, z. B. [9], [10]. Die in runden Klammern gleich hinter den laufenden Nummern der autolysierten Lebern beigefügten Zahlen geben die Zahl der Tage an, während deren die Autolyse vor sich ging, z. B. (128). Die fettgedruckten Ziffern bedeuten, daß das Organ feucht extrahiert ist. Die an Hundelebern gewonnenen Resultate stehen für sich, ihnen folgen die Untersuchungen von Kaninchenlebern. Sämtliche Gewichtsangaben sind prozentische.

#### I. Hundelebern.

##### 1. Wassermenge in Prozenten.

Normale.	Autolysierte.
1 70 p. c.	1 (7) 73 p. c.
2 70 "	2 (12) 70,1 "
3 72 "	4 (28) 66,4 "
4 67 "	9 (144) 69 " ? } große Flüssigkeits-
6 65 "	10 (77) 66 " ? } menge fortgegossen.
7 65 "	12 (184) [9] 77 p. c.
8 68,6 "	14 (136) [10] 75 "
9 71,5 "	15 (28) 67,2 p. c.
10 71 "	18 (44) 77,1 "
13 65 "	19 (203) 76,4 "
16 67 "	
18 65,1 "	

##### 2. Alkoholrückstand in Prozenten.

Normale.	Autolysierte.
4 2,79 (Chlor. + 1,52), R. = 4,31	4 (28) 5,5 (Chlor. + 2,28),
5 2,91 (Chlor. + 1,49), R. = 4,46	R. = 7,78
6 4,9 (3 Std. mit 85 prozentigem, 3 Std. mit alc. abs.)	9 (144) 14,3 (1½ St. je bei 40, 60, 80°) 10 (77) 10,14 (je 2 Std. bei 40, 60°)

## Normale.

9 4,9	(1½ Std. je bei 40, 60, 80°)
10 4,3	(2 Sd. je bei 40 u. 60°)
16 2,9	(Chlor. + 1,21), R. = 4,12
17 2,86	(Chlor. + 2,4), R. = 5,26
18 (wie bei 6)	= 5,60

## Autolysierte.

11 (19)	10,0 (5½ fache Menge Alc. abs., 3 Stunden)
12 (184)	[9] 3,84
14 (136)	[10] 19,6 (3 Std. mit 85 prozent., 3 Std. mit alc. abs.)
15 (28)	6,9 (Chlor. + 1,45), R. = 8,35
18 (13)	8,98 (3 St. mit 85 prozentig., 3 St. mit alc. abs.)
19 (203)	11,2 (, , , )

## 3. Ätherlöslich.

## Normale.

1 5,33	R.
2 3,69	R.
4 4,08	R.
5 3,56	
6 4,15	
9 2,96	
10 4,09	
18 5,01	

## Autolysierte.

1 (7)	4,75 R.
4 (28)	4,63 R.
9 (144)	2,80
10 (77)	4,55
11 (19)	3,75
12 (184)	[9] 1,17
14 (136)	[10] 1,64
15 (28)	4,35.
18 (13)	4,47
19 (203)	2,73

## 4. Protagon.

## Normale.

6 0,003	
7 0,008	
13 0,003	
18 0,005	
19 0,002	

## Autolysierte.

12 (184)	[9] 0,00
14 (136)	[10] 0,03
18 (13)	0,008
19 (203)	0,023
18b (24)	0,026

Menge des aus Alkohol beim Abkühlen Ausgefallenen.  
(Protagon + Lecithin.)

## Normale.

9 0,02	
10 0,03	
11 (19)	0,31

## Autolysierte.

9 (144)	0,48
10 (77)	0,12
11 (19)	0,31

## 5. Jekorin.

## Normale.

9 0,07	
10 0,09	
19 0,04	

## Autolysierte.

9 (144)	1,17
10 (77)	1,05
11 (19)	2,25
12 (184)	[9] 0,28 } mit Aceton
14 (136)	[10] 9,96 } gefällt.
18 (13)	0,66
19 (203)	3,63

## 6. Lecithin.

a) als Cholinplatinchlorid bestimmt.

Normale.	Autolysierte.
9 0,28	9 (144) 1,03
10 0,72	10 (77) 0,65

b) mit Aceton gefüllt.

Normale.	Autolysierte.
6 3,72 aus Äther	11 (19) 1,18 aus Äther,
7 3,85 " "	12 (184) [9] 0,0 " " aus Alkohol 0,05
8 3,62 " "	14 (136) [10] 0,0 " " " 0,04
18 4,05 " "	18 (13) 2,35 18b(24) 0,77 19c (203) 0,0

## 7. Fettsäuren.

Normale.	Autolysierte.
6 0,02	12 (184) [9] 0,05
18 0,18	18 (13) 0,62
	19 (203) 2,12

## 8. Cholesterin.

6 0,008	12 (184) [9] 0,04
18 0,018	14 (136) [10] 0,11
	18 (13) 0,05
	19 (203) 0,06

## 9. Neutralfette.

6 0,42	12 (184) [9] 1,17
18 0,32	14 (136) [10] 1,50
	18b(24) 0,84
	19 (203) 0,65

## II. Kaninchenlebern.

## 1. Wassermenge in Prozenten.

Normale.	Autolysierte.
I 70,4	I (44) 71,2
II 72,4	II (40) 75,0
III 72,3	IV (67) 70,0
IV 68,2	V (115) 78,2

## 2. Alkoholextrakt.

Normale.	Autolysierte.
II 3,6 (Chlor. + 0,97), R. = 4,57	I (44) 7,19 (Chlor. + 1,25), R. = 8,44
III 2,7 (Chlor. + 1,00), R. = 3,7	III (40) 4,81 (Chlor. + 1,01), R. = 5,82
IV 5,8 (Chlor. + 1,29), R. = 7,09	IV (67) 8,16 (Chlor. + 1,11), R. = 9,27
	V (115) 4,4 (Chlor. + 1,45), R. = 5,85

## 3. Ätherextrakt.

Normale.	Autolysierte.
I 4,3 R.	I (44) 3,42 R.
II 4,5 R.	III (40) 2,70 R.
III 3,3 R.	IV (67) 5,83
IV 6,5 R.	

Nachdem ich so eine Gesamtübersicht über meine Resultate gegeben habe — besonders ein Vergleich der Zahlen an denselben Lebern vor und nach verschiedenen Stadien der Autolyse gewonnen, muß die ausgedehnten und spezifisch verlaufenden Veränderungen deutlich machen —, trete ich in die Besprechung der einzelnen Substanzen ein, welche durch Zerlegung des Alkohol- und Ätherrückstandes erhalten sind und welche uns die Berechtigung geben, von einer fettigen Degeneration während der Autolyse zu sprechen. Daß eine bestimmte Reihenfolge des Auftretens und Verschwindens dieser Körper vorliegt, wenn sie auch noch nicht bis zu Einzelheiten ganz klargelegt ist, wird jedem einleuchten, der die Zeitdauer der Autolyse und die Vermehrung resp. Verminderung der einzelnen Körper miteinander in Beziehung setzt. Wollte ich die Bedeutung dieser Befunde bis ins einzelne verfolgen, welche, wie ich glaube, eine Änderung mancher unserer gangbaren Anschauungen hervorrufen werden, so müßte ich mich weit in Physiologie und Pathologie verlieren. Ich warte die so einfach herbeizuführende Bestätigung meiner Befunde ab und überlasse es dem Leser, mit Berücksichtigung dieser Resultate z. B. die Fragen zu prüfen: Findet eine Fettbildung aus Eiweiß statt? Sind die in der Nervensubstanz gefundenen Körper wie Protagon, Cerebrin, Lecithin spezifische, der geistigen Tätigkeit zugrunde liegende Stoffe oder sind sie nicht vielmehr von schnellem Umsatz Kunde gebende Abbauprodukte? In dieser Arbeit, welche dazu dienen soll, eine Erklärung der fettigen Degeneration durch den Vergleich mit der Autolyse zu liefern, würde mich die Beantwortung vorstehender Fragen von dem mir gesteckten Ziele fernhalten.

#### Das Wasser.

Zahlen, wie sie bei den autolysierten Lebern 12, 14, 18 und 19 von Hunden und II und V von Kaninchen festgestellt sind, kommen in normalen Lebern nie vor. Meine Resultate sind, da, wie ich bereits bemerkte, anfangs von mir die blutig ausschende Flüssigkeit für reines Blut gehalten und nicht mitbestimmt ist, nicht so vollständig, wie ich es wünschte. Während in den nichtautolysierten, als normal angesehenen Lebern

die höchste Prozentzahl des Wassers 72 beträgt, ist sie bei der 136 Tage autolysierten 75, bei der 44 Tage lang konservierten 77,1, bei der 203 Tage der Autodigestion überlassenen 77,4, bei der 184 Tage aufbewahrten 77. Eine deutliche Vermehrung des Wassers scheint demnach erst in späteren Stadien der Protoplasmaauflösung einzutreten, zu einer Zeit, da Protagon und Lecithin abnehmen oder bereits verschwunden sind, da Fettsäuren, Cholesterin und Neutralfette ebenfalls vermehrt sind.

### Der Alkoholrückstand.

Die Menge des Alkoholrückstandes der der Autolyse unterworfenen Lebern erreicht gegenüber den Zahlen, welche die Größe des aus normalen Lebern mit Alkohol Extrahierbarem angeben, hohe Werte. Die Zunahme des in Alkohol löslichen erfolgt bereits nach etwa 14 Tagen und scheint nach etwa einem halben Jahre einer Verminderung Platz machen zu können (s. Best. 12). An dieser Zunahme wirken vor allen andern Körpern das Jekorin, jedenfalls keine in Äther löslichen Substanzen. Das Protagon vor der Abdunstung des Alkohols auf Eis zum Ausfall gebracht, ist in diese Zahlen für den Alkoholrückstand nicht eingeschlossen. Hatten Lindemann<sup>1)</sup> und Siegert<sup>2)</sup> vom Ätherauszug der autolysierten Organe ausgesprochen, daß seine Zusammensetzung eine andere sei, als wenn man ihn aus normalen Lebern gewinnt, so kann ich durch P- und N-Bestimmungen des Alkoholextrakts beweisen, daß ganz andere Körper aus der autolysierten Leber in den Alkohol übergehen, als aus der normalen. Eigentlich bedarf es ja dieses Beweises nicht, wenn man erkennt, daß ich an der Hand der Alkoholextraktion eine starke Abnahme des Lecithins und eine Zunahme des Protagons und des Jekorins festgestellt habe; aber ich glaubte auch bei dieser Gelegenheit den Beweis für die Richtigkeit meiner Befunde nicht auslassen zu sollen. Es ist verständlich, daß je nach dem Verhältnis des schwindenden Lecithins zu dem neu auftretenden Protagon und Jekorin die P- und N-Werte des Alkoholauszugs schwanken müssen, daß sich nicht für alle Stadien der Autolyse gleiche Verhältnisse ergeben

<sup>1)</sup> Zieglers Beitr. z. path. Anatomie Bd. 25.

<sup>2)</sup> Beitr. z. chem. Phys. u. Path. 1901.

werden, daß in den ganz späten Stadien, wenn Lecithin, Protagon und Jekorin immer mehr abnehmen, die Zahlen für P und N andere sein müssen als in den Anfangszeiten, in denen Protagon und Jekorin stark zunehmen. Man wird jedenfalls aus den nachfolgenden Zahlen, welche den prozentischen Gehalt des Alkoholextrakts angeben, den eklatanten Unterschied in der Zusammensetzung der alkoholischen Auszüge aus normalen und pathologischen Lebern erkennen.

Normale Leber		Autolysierte		Zahl der Autolysetage
p. c. N	p. c. P	p. c. N	p. c. N	
2,21	1,42	4,43	0,65	77
2,86	1,24	6,24	0,44	144
2,81	1,76	3,72	0,67	203

Nach diesen Zahlen, mit deren Vervollständigung ich Herrn cand. med. Schulte<sup>1)</sup> beauftragt habe, nimmt während der Autolyse der P-Gehalt des Alkoholextrakts ab, die N-Menge zu. Jekorin enthält mehr N als das schwindende Lecithin.

#### Protagon.

Wir besprechen zunächst im einzelnen diejenigen Substanzen, welche aus dem Alkohol gewonnen, nicht in den Äther übergehen. Protagon ist in normalen Lebern nur in Spuren vorhanden, wir bestimmten 0002—0008 p. c. Es fällt zugleich mit Lecithin aus, wenn man den Alkohol sogleich nach der Extraktion 24 Stunden in den Eisschrank bringt. Die am Boden und an den Wänden der Glasschale sich absetzenden Massen bilden einen etwas gelblich aussehenden feinen Überzug. Hier ist wieder einzuschalten, daß wenn man feuchte Organe verarbeitet, das Protagon fast ausschließlich in den bei der zweiten Extraktion verwandten absoluten Alkohol übergeht. Filtriert man ab und übergießt den auf dem Filter befindlichen und den an den Wänden des Glases ziemlich zäh haftenden Niederschlag mit 45° warmem absoluten Alkohol, so löst sich das Protagon leicht, um nach mehrstündigem Aufenthalt im Eisschrank in lichten, weißen, zarten Flocken wieder auszufallen. Wiederholt man das Auflösen und Ausfällen zweibis dreimal, so sieht man mikroskopisch die schönsten Drusen

<sup>1)</sup> Inaug.-Diss. Göttingen 1904.

glänzender, langer, feingeschwungener Nadeln, ohne daß zwischen dieselben eine verunreinigende Masse eingelagert ist. Benutzt man zum Lösen des Protagons heißeren Alkohol, etwa solchen von 60°, so entsteht statt der weißen Flocken ein kristallinisches Pulver, das mikroskopisch aus undurchsichtigen, knolligen Aggregaten besteht (Cerebrin). Ich habe zweimal nach Kjeldahl N-Bestimmungen des Protagons vorgenommen und fand einmal 4,0, das zweite Mal 4,08 p. c. Diese Zahlen sind höher als die bislang gefundenen höchsten Werte von Kossel<sup>1)</sup> 3,25 und Zuelzer<sup>2)</sup> 3,3. Das erklärt sich vielleicht einmal aus der Darstellung — bislang wurde der N-Gehalt nur von aus Gehirnen gewonnenem Protagon festgestellt — und daraus, daß ich größere Mengen, die ich bei der P-Vergiftung aus der Leber gewann, verwenden konnte.

Die Menge des Protagons bei meiner Art des Autolysierens nimmt sehr langsam zu; nach 13 Tagen z. B. fand ich statt 0,005 in der frischen Leber 0,008. Wie lange die Zunahme des Protagons dauert, lassen die noch nicht in genügender Menge vorhandenen Werte nicht erkennen. In den spätesten Zeiten findet wieder eine Abnahme statt. Ich habe zur Vervollständigung der Protagonwerte die Zahlen unter dieser Rubrik mit eingefügt, welche die Gesamtmenge des aus warmem Alkohol Ausgefallenen angeben. Da nämlich, wie wir sehen werden, die Menge des Lecithins, welches ja die andere im-Betracht kommende Komponente des Ausgefallenen bildet, in späteren Zeiten der Autolyse abnimmt, so kann man mit einer gewissen Berechtigung diese Werte auch für den Nachweis der Protagonvermehrung in der autolysierten Leber heranziehen.

#### Jekorin.

Nach Behandlung des Alkoholrückstandes mit Äther und Alkohol — das hierbei Gewonnene wird unter „Lecithine“ besprochen — löst sich bei Verarbeitung autolysierter Lebern fast die gesamte noch übrigbleibende Masse in Wasser mit Leichtigkeit. Schon beim Abgießen des Alkohols und Äthers sieht man, wie eine trockne, poröse, erdige, gelbliche Masse über-

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. 17, 1892.

<sup>2)</sup> Ebenda 27, 1899.

bleibt und wie sich diese in kurzer Zeit in braungelbe Tropfen verwandelt. Auf die Abweichungen von diesem Verhalten komme ich gleich. Die wässrige Lösung des in Äther und Alkohol ungelöst gebliebenen Alkoholrückstandes ist trüb gelblich, reduziert Kupferoxyd intensiv, dabei entsteht ein Seifengeruch und im Glase eine Seifengallerte. Die wässrige Lösung löst Silber, wenn sie im Überschuß zugesetzt wird, nachdem eine Trübung vorhergegangen ist, und fügt man nun zu der opaleszierenden Lösung wenig Ammoniak und erhitzt, so entsteht eine Portweinfarbe (Baldische Reaktion). Es ist hier gewiß nicht der Ort, darüber zu diskutieren, ob jedes Jekorin alle diese Eigenschaften zeigen muß, ob nicht, was mir häufiger vorgekommen ist, auch Körper in die Gruppe der Jekorine zu rechnen sind, welche wasserlöslich, in Äther und Alkohol nach dem Verdunsten des sie zunächst lösenden warmen Alkohols unlöslich sind, die Baldische Reaktion geben, sich durch Aceton fällen lassen, aber nicht reduzieren. Auch die Affinität zu Wasser kann je nach dem Fällungsmittel, das verwendet ist, ein mehr oder weniger inkonstantes Symptom sein. Ich habe von den Körpern, welche keine deutliche Reduktion gaben, vorläufig abgesehen. Damit nun bei Anstellung der Reduktionsprobe der Einwand fortfällt, daß zufällig beigemengte reduzierende Substanzen im Spiele sind, bin ich in den letzten Bestimmungen so verfahren, daß ich nach Lösung des Alkoholrückstandes in Wasser und Filtration der wässrigen Lösung des Jekorins nunmehr das vier- bis fünffache an Aceton hinzufügte. Das Jekorin teilt nämlich mit den Lecithinen die Eigenschaft, aus seinen Lösungen durch Aceton gefällt zu werden. Nach Abgießen des Wasser-Acetongemisches wurde das Aceton mittels Gebläse so viel wie möglich entfernt und der Niederschlag wieder in Wasser gelöst, das Wasser bei 45° langsam verdunstet. Nach Trocknung und Wägung des Rückstandes von blaßgelber Farbe — Manipulationen, die lange Zeit in Anspruch nehmen — wurde das Jekorin wieder in Wasser gelöst und man erzielte nun einen prachtvollen, dicken, roten Oxydulausfall. Durch die Fällbarkeit mit Aceton ist das Jekorin wieder genauer umgrenzt, seine Charakterisierung weiter gefördert, zu den bekannten Eigenschaften ist eine neue gefunden.

Immerhin können einzelne dieser Eigenschaften schwanken, wie ich schon betonte; es gibt während der Autolyse Vorstufen des Jekorins, welche nicht reduzieren. So gewann ich nach 13tägigem Autolysieren aus dem Alkoholrückstand nach Behandlung mit Äther und Alkohol eine gelbliche, homogen ausschende Masse, von der ein Teil mit Wasser in Lösung ging, aber nicht reduzierte, während andere gelbliche klumpige Massen nicht von Wasser gelöst wurden. Aus derselben Leber nach 19tägiger Autolyse ging nach Behandlung des Alkoholrückstandes mit Alkohol und Äther alles in Wasser über, ich bekam 2,25 p. c. stark reduzierende Substanz. Gewiß kann man darüber im Zweifel sein, was alles als Jekorin anzusprechen ist, ob nicht die Eigenschaften wechseln können; bei meinen Untersuchungen aber hat es sich um Körper gehandelt, welche im Alkoholauszug der normalen Leber in geringen Mengen oder kaum vorhanden und welche mit Fug und Recht als Jekorin anzusprechen sind. Ich wiederhole, es waren Körper, welche in heißem Alkohol gelöst, in Äther und Alkohol nicht wieder in Lösung gingen, nachdem der Alkohol abgedampft war, welche mit Wasser eine trübe Lösung bildeten, welche aus dieser Lösung mit Aceton ausfielen, die in wässriger Lösung Kupferoxyd reduzierten und die Baldische Probe mit Silber und Ammoniak gaben. Weitere Untersuchungen müssen feststellen, ob Hygroskopie und Reduktion konstante Eigenschaften des Jekorins sind. Daß ich es mit reinen Substanzen zu tun hatte, beweist der Umstand, daß es Herrn Privatdozenten Dr. Bendix ohne nochmaliges Umkristallisieren gelang, Hexosazone von fast typischem Schmelzpunkt darzustellen. Der prozentische N-Gehalt von 1,023 Jekorin, welches durch Acetonfällung aus wässriger Lösung, Wiederauflösen in Wasser und Verdunsten des Wassers gewonnen war, betrug 4,40 p. c.; dieser Wert entspricht dem Baldis.<sup>1)</sup>

Die starke Vermehrung des Jekorins tritt nach meinen Untersuchungen erst etwa 19 Tage nach Beginn der Autolyse ein; sie erreicht hohe Werte, aber in den spätesten Tagen schwindet das neugebildete Jekorin wieder, wohl um dieselbe Zeit, in

<sup>1)</sup> Du Bois-Reymonds Arch. 1887, Suppl.

der auch Protagon und Lecithin verschwunden sind, die anderen ätherlöslichen Substanzen, Fettsäuren, Cholesterin und Neutralfette, ebenso wie das Wasser zunehmen. In der normalen Leber fand ich 0,04—0,09 p. c. Jekorin, in der autolysierten Leber wurde am 136. Tage einmal der Wert von 9,96 p. c. erreicht; dazu kommen noch 1,28 g, welche in der überstehenden Flüssigkeit gelöst waren (s. S. 14).

### Das Ätherlösliche.

Während man von einer Zunahme dessen, was vom Alkohol-extrakt ätherlöslich ist, nicht mit Sicherheit sprechen kann, geht mit Gewißheit aus meinen Zahlen hervor, daß in späteren Stadien der Autolyse eine starke Abnahme des Ätherextrakts erfolgt. Wie wir des weiteren zeigen werden, ist diese Ver-minderung durch die starke Abnahme der Lecithine bedingt. Da aber letztere auf ganz minimale Werte herabgehen, so müssen andere ätherlösliche Substanzen neugebildet werden; das bestätigen die bei der Zerlegung des Ätherextrakts ge-wonnenen Resultate. Es handelt sich demnach, wie das auch Untersucher vor mir betont haben, um ganz andere Körper, welche aus der lange autolysierten Leber in Äther übergehen, als die sind, welche den Ätherrückstand der normalen Leber bilden. Nach diesen Ausführungen sind auch die neuesten Unter-suchungen Rosenfelds<sup>1)</sup> zu beurteilen, der nach Vergiftungen mit Phloridzin, Oleum pulegii und Chloroform eine Entfettung fand. Die Alkoholauszüge wachsen im Verlauf der Autolyse stark an, nicht der Ätherrückstand, ätherunlösliche Substanzen werden also in größerer Menge neugebildet, so das Jekorin. Ganz am Schluß der Autolyse wird auch das Jekorin weniger, der Alkoholrückstand nimmt ab. Während von der normalen Leber fast alles, was in Alkohol resp. in Alkohol und Chloroform löslich ist, auch in Äther übergeht, also wohl meist Lecithin zu sein scheint, ist vom Alkohollöslichen der autolysierten nur ein Bruchteil, oft weniger als die Hälfte im Äther wiederzufinden. Am schreidendsten wird das Mißverhältnis zwischen Alkohol- und Ätherextrakt in der Zeit etwa vom 114. bis 144. Tage,

<sup>1)</sup> Berl. klin. Woch. 1904, Nr. 22.

ganz spät kehren die Verhältnisse der früheren Zeit zurück, die Jekorinbildung hat ihren Höhepunkt überschritten.

### Lecithine.

Auf Grund einiger Bestimmungen, in denen ich die Menge des Cholinplatinchlorids feststellte, war ich in meiner ersten Mitteilung zu dem Schluß gekommen, daß ganz allgemein eine Zunahme des Lecithins während der Autolyse erfolge; heute muß ich diesen Satz dahin modifizieren, daß von dem in den spätesten Zeiten zu findenden, stark abnehmenden Lecithin immer mehr alkohollöslich wird, daß es sich also eventuell um andere neugebildete Lecithine handelt. Man findet in den Lehrbüchern verschiedene Angaben darüber, ob das Lecithin leichter in Äther oder Alkohol löslich ist. Nach Hoppe-Seyler und Thierfelder,<sup>1)</sup> ebenso nach Hammarsten<sup>2)</sup> ist Lecithin leichter in Alkohol als in Äther löslich, und so hatte ich zur Bestimmung des Cholinplatinchlorids nur das verwandt, was bei wiederholtem Verdunsten des vorigen Lösungsmittels, sei es Äther oder Alkohol, in Alkohol überging. Da nun anscheinend in späteren Tagen die Menge des Lecithins, das nach vorhergehender Extraktion des frischen Organbreies mit verdünntem Alkohol, Trocknen und Behandlung des Rückstandes mit Äther und Alkohol in den Alkohol übergeht, zunimmt, so entstand bei mir die Annahme einer Vermehrung des Lecithins bei der Autolyse. Offenbar ist die Löslichkeit der verschiedenen Lecithine eine verschiedene, ja auch das vorhergehende Lösungsmittel ist von Einfluß auf die Löslichkeit in dem anderen, ebenso wie das Trocknen. In frischen Organen geht die große Menge des Lecithins aus dem Alkoholrückstande in den Äther über und ist von mir in den späteren Bestimmungen durch Aceton gefällt worden. Der N-gehalt des Lecithin-gemenges betrug 2,13 p. c. Da namentlich bei autolysierten Lebern ein Teil auch in den nach der Ätherextraktion verwandten warmen Alkohol übergeht, so muß auch aus diesem das Lecithin mit Aceton niedergeschlagen werden. Zu dem aus dem Rückstande der ursprünglichen Alkoholauszüge durch Be-

<sup>1)</sup> Handb. d. physiol. u. pathol. chemischen Analyse 1893. 6. Aufl.

<sup>2)</sup> Lehrb. d. physiol. Chemie, Wiesbaden 1899.

handlung mit Äther und Alkohol gewonnenen Lecithin muß dann die Menge hinzugefügt werden, welche neben dem Protagon vorwiegend aus dem warmen, dünnen Alkohol bei Aufenthalt im Eisschrank ausgefallen und damals in Äther gelöst ist. Die auf diese Weise gefundenen Werte stimmen bei den normalen Lebern gut überein, die an autolysierten Lebern gewonnenen Zahlen zeigen aufs deutlichste die Abnahme des Lecithins während der Autolyse, bis vom 136.—184. Tage etwa kein Lecithin mit Ätherauszug mehr zu finden ist, während im Alkohol noch kleine Mengen zu bestimmen waren. Ob nun nicht in den ersten Tagen der Autolyse neues Lecithin gebildet, die Erkennung dieses Vorganges aber durch die starke Abnahme des schon gebildeten Lecithins verschleiert wird, will ich in weiteren Versuchen feststellen.

Wenn also, wie sicher feststeht, das Lecithin während der Autolyse abnimmt, so kann eine Zunahme des Alkoholextrakts nur auf Rechnung anderer Körper, vorwiegend des Jekorins, zustande kommen. Wenn der Ätherrückstand nicht entsprechend der Lecithinverminderung abnimmt, was wir ja feststellten, so müssen dafür die anderen Substanzen, welche aus dem Alkoholextrakt einer Leber in den Äther übergehen, zunehmen, nämlich die

#### Fettsäuren, Cholesterin, Neutralfette.

Magnus Levy<sup>1)</sup> hat in seinen ausgedehnten und exakten Untersuchungen die Säuren, welche, wie ich bereits erwähnte, in so großer Menge auftreten — ein einfaches Eintauchen von Reagenspapier in die überstehende Flüssigkeit überzeugt uns davon — daß ich durch ausgedehnte Untersuchung feuchter Organe den Vorwurf zurückweisen zu müssen glaubte, es könnten die von mir gefundenen die fettige Degeneration erweisenden Körper beim Erhitzen mit diesen Säuren zwecks Gewinnung eines trocknen Pulvers erst entstanden sein, zerlegt und genau identifiziert. Er fand eine Neubildung von Milchsäure, Essigsäure, Buttersäure, Bernsteinsäure, Kohlensäure. So ist es denn nur eine Bestätigung seiner Resultate und bedarf kaum weiterer Untersuchungen, daß auch meine Zahlen eine starke Zunahme

1) Beitr. z. chem. Phys. u. Path. 1902.

der Fettsäuren ergeben. Ebenso verhalten sich Cholesterin und die Neutralfette in meinen Bestimmungen und zwar ist in den Lebern, welche 184 und 203 Tage autolysiert wurden, weniger an Cholesterin und Fettsäuren vorhanden, als in der 136 Tage aufbewahrten, letztere enthielt weniger Wasser als erstere. Gerade die Zahlen in dieser Richtung bedürfen noch der Vermehrung, ihre Übereinstimmung aber mit der Erwägung, daß eigentlich bei der starken Abnahme des Lecithins und der nicht entsprechenden des Ätherrückstandes diese Körper wie Fettsäuren, Cholesterin und Neutralfette vermehrt sein mußten, lassen eine Bestätigung dieser Befunde als sicher eintretend erwarten.

Ich habe jetzt noch etwas eingehender zu schildern, wie ich die Abtrennung der Lecithine, der Fettsäuren, des Cholesterins und der Neutralfette aus dem Ätherextrakt vorgenommen habe und bemerke gleich, daß ich hier längst beschrittene Bahnen gegangen bin. Nach Einengung und Filtration des Ätherauszuges wurde er mit dem 4-fachen Volum Aceton versetzt und an einer entnommenen Probe die Beendigung der Ausfällung festgestellt. Nach längerem Stehen setzt sich das Lecithin in dicker, zusammenhängender Masse am Boden der Schale ab, sodaß man ohne Verlust die Aceton-Ätherlösung abgießen und einmal mit Aceton nachspülen kann. Geht das nicht, so muß man durch ein gewogenes Filter filtrieren. Das Lecithin wird zunächst mit Gebläse und im Wasserbade von 50—60° vom Aceton befreit, im Exsikkator getrocknet bis zur Konstanz und gewogen. Nach dem Wägen löst sich das ausgefällte Lecithin völlig wieder in Äther.

Die abgegossene Äther-Acetonlösung der Fettsäuren, Cholesterin und Neutralfette wird ebenfalls im Wasserbade bei 50—60° unter Zuhilfenahme des Gebläses zum Trocknen eingedunstet, der Rückstand in Äther aufgenommen, der Äther verdunstet und die Gesamtmenge von Fettsäuren, Cholesterin und Neutralfetten gewogen. Nach Wiederaufnahme in Äther wird diese Ätherlösung mit etwas verdünnter konzentrierter Sodalösung im Scheidetrichter geschüttelt, man läßt absitzen und schüttelt die Sodalösung mit den Fettsäuren zur Reinigung wieder mit Äther aus. Die Ätherlösung, aus der die Sodalösung die Fettsäuren zog, wird vom Äther befreit, der Rück-

stand gewogen. Man erkennt dann an dem, was an Ätherlöslichem gegenüber der ersten Wägung nach Fällung des Acetons weniger vorhanden ist, die Menge der Fettsäuren. Der Rückstand wird dann mit alkoholischer Kalilauge auf dem Wasserbade einige Zeit gekocht, der Alkohol verjagt. Die übrigbleibende Masse versetzt man mit viel Wasser und schüttelt im Scheidetrichter mit Äther, in den dann fast nur Cholesterin übergeht. Man verjagt den Äther und wähgt das Cholesterin. Die Menge der Neutralfette gewann ich, indem ich von den Zahlen des Ätherextrakts nach der Lecithinfällung und der Entfernung der Fettsäuren das Cholesterin abzog, ein Verfahren, durch welches höchstens Verluste entstehen können und durch welches jedenfalls die Zunahme der Neutralfette in der autolysierten Leber nicht erklärt wird.

### Leucin und Tyrosin.

Nach etwa 4-5 Wochen überziehen sich die autolysierten Lebern mit allmählich an Größe zunehmenden gelben Knöpfchen an den Stellen, an denen die Leber freiliegt. Ganz spät entsteht ein zerfließender, die ganze Oberfläche bedeckender Brei. Die Knöpfchen und Schüppchen sitzen fest an der Leber und bei ihrer Entfernung haften den sie bildenden Leucin- und Tyrosinmassen Partikelchen der Lebersubstanz an. Ich habe die vorwiegend aus Tyrosin bestehenden Massen nicht quantitativ bestimmt, sondern mich nur bemüht, das Tyrosin möglichst rein zu gewinnen. Wenn man die Massen von der Leber entfernt und unter dem Deckglas etwas zerdrückt, erkennt man die regelmäßig geformten Nadelbüschel, die sich bei gelindem Erwärmen nicht, wohl aber leicht in Salzsäure lösen. Ich habe dann größere Mengen der Kristalldrusen von der Leber abgezupft und in heißem Wasser mit Ammoniakzusatz gelöst, filtriert, das Ammoniak verjagt, das Wasser abgedunstet und im Exsikkator getrocknet. Man erkennt dann die oft radiär gestreiften und konzentrisch geschichteten Leucinkugeln und die Büschel der Tyrosinkristalle, welch letztere in Alkohol und Äther unlöslich sind, während die ersten sich leicht in Alkohol lösten. Suspendierte man von dem weißen Rückstande in Wasser und setzte Millonsches Reagens hinzu, so entstand beim Erhitzen Rotfärbung, nach

längerem Stehen roter Niederschlag. Da Leucin und Tyrosin auch im Innern der autolysierten Leber sich fanden, da ihre Entfernung ohne Läsion der übrigen Leberbestandteile nicht möglich erschien, habe ich die Kristalle mitgewogen resp. mitgetrocknet und zermahlen. Es haben u. a. schon Magnus Levy<sup>1)</sup> und Reh<sup>2)</sup> Leucin und Tyrosin in autolysierten Organen gefunden, ersterer ebenfalls in der Leber, letzterer in Lymphdrüsen, beide durch Bestimmung des N-gehalts identifizierend. Und so ist denn wohl kein Zweifel, daß schon relativ früh Leucin und Tyrosin in aseptisch autolysierten Lebern gebildet werden und zwar in großer Menge. Vermehrt sind demnach in autolysierten Lebern Protagon, Jekorin, Leucin und Tyrosin, Fettsäuren, Cholesterin, Neutralfette und Wasser.

Eine einwandsfreie Gleichstellung der autolytischen Prozesse mit der fettigen Degeneration wird ja erst dann gegeben sein, wenn die anatomische und chemische Untersuchung der Organe gleiche Resultate fördert. Ich habe bislang in fettig degenerierten Herzen und Lebern eine Zunahme des Protagons, in Fettlebern eine Vermehrung des Alkoholextrakts nachgewiesen, stehe aber noch mitten in diesen Untersuchungen. Eine wesentliche Stütze für die Annahme, daß der Untergang des Organs im Organismus und der durch Entfernung aus dem Körper herbeigeführte unter Bildung derselben Substanzen verläuft, finde ich in dem gelungenen Nachweis der Protagon- und Jekorinvermehrung in Herz, Leber und Nieren mit P vergifteten Hunde. Auch die Leucin und Tyrosinbildung, die ja schon von anderen Autoren gefunden ist, legt Zeugnis davon ab, daß der Abbau der Leberzellen im menschlichen Körper und bei aseptisch aufbewahrten tierischen Organen dieselben Bahnen einschlägt.

Es treten demnach unter Änderung des mikroskopischen Bildes und unter wechselndem Verhalten gegenüber Reagentien und Farbstoffen in dem Sinne, wie sie der Anatom für die Diagnose der fettigen Degeneration verwertet, charakteristische chemische Stoffe in autolysierten Organen auf, es findet eine starke Vermehrung solcher bekannten Körper statt, welche dem Eiweiß nahestehend, fettähnlichen, ja fettgleichen Charakter an-

<sup>1)</sup> Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 1902.

<sup>2)</sup> Ebenda 1903.

nehmen. Das massenhafte Auftreten dieser Körper resp. die Vermehrung von Fettsäuren, Neutralfetten und Cholesterin ist an bestimmte noch näher zu erforschende Zeiten gebunden. So haben wir wohl reichlich Grund, die Autolyse und die fettige Degeneration zu identifizieren, anzunehmen, daß, ganz gleich, ob der Tod durch Abschneidung der Zufuhr oder durch direkte Einwirkung von Giften erfolgt, der Zelluntergang durch gleiche chemische Substanzen charakterisiert ist.

Nicht unerwähnt möchte ich lassen, daß die physikalischen Eigenschaften der von mir im Anfang des autolytischen Prozesses gefundenen Substanzen mit den Eigenschaften der in degenerierten Organen entstandenen Produkte wie Tröpfchenbildung, Resorbierbarkeit in gutem Einklange stehen und daß es sich chemisch um sich nahestehende Körper einer Gruppe handelt. Die Autolyse beweist, daß fettähnliche und fettige Zerfallsprodukte der Zellen in loco entstehen und diejenigen, welche bei der fettigen Degeneration einen Transport des Fettes von außen in die untergehenden Organe annehmen, werden mit diesen Befunden zu rechnen haben.

Herrn Geh. Rath Ebstein danke ich für das wohlwollende Interesse an meiner Arbeit.

---

## II.

### Über die Zellen des menschlichen Eiters und einiger seröser Exsudate.<sup>1)</sup>

(Aus der I. medizinischen Klinik in München).

Von

Dr. Julius Leuchs.

(Hierzu Taf. I.)

---

Im April 1902 haben R. May und L. Grünwald in einer „vorläufigen Mitteilung<sup>2)</sup>“ über eine neue Methode zur Blut-

<sup>1)</sup> Auszug aus: Leuchs, Über die Zellen des menschlichen Eiters usw. Inaug.-Diss. München 1904.

<sup>2)</sup> Zentralblatt für innere Medizin 1902 Nr. 11.