

XXIV.

Ueber das Vorkommen des sogenannten Bence Jones'schen Eiweisskörpers im normalen Knochenmark.

Von Dr. Richard Fleischer in Erlangen.

In seiner Arbeit über parenchymatöse Entzündung¹⁾ theilt Virchow mit, dass er bei ausgesprochener Osteomalacie die Knochen von einer weichen, zitternden Gallerte erfüllt fand, welche an wenigen Stellen hellgelb und klar, an anderen und namentlich da, wo der Prozess noch in der Ausbildung begriffen war, dunkelroth erschien. Diese Gallerte reagirte auf frischen Durchschnitten stark alkalisch. Ein Theil der weniger mit Blut getränkten Gallertmasse wurde mit destillirtem Wasser geschüttelt, dann filtrirt. Das klare, neutrale Filtrat trübte sich beim Kochen sehr stark, nach Zusatz von Essigsäure wurde die Trübung flockig. Die Flocken lösten sich bei weiterem Kochen, sodass die Flüssigkeit noch etwas opalescirend blieb. Ferrocyankalium erzeugte darin starke Trübung. Salpetersäure trübte die ursprüngliche Lösung, beim Kochen schieden sich Flocken aus. Sublimat gab eine flockige Trübung, ebenso das Millon'sche Reagens, beim Kochen mit demselben schied sich ein dunkelrothes Gerinnsel ab. Alkohol gab eine Fällung. Concentrirte Essigsäure in minimo zugesetzt, erzeugte starke, im Ueberschuss des Reagens lösliche Trübung. Goss man in die essigsäure Lösung reine Salpetersäure, so entstand eine flockige Trübung, die sich beim Erwärmen löste, beim Erkalten wieder hervortrat, beim Erwärmen wieder löste u. s. w. In dem zuletzt angegebenen Verhalten zeigt jene Substanz, wie Virchow hervorhebt, eine grosse Aehnlichkeit mit dem Eiweisskörper, welchen Bence Jones²⁾ in dem Harn eines an Osteomalacie leidenden Mannes beobachtet und als Albumindentoxydhydrat bezeichnet hat. Der betreffende Harn war trüb und coagulirte beim Kochen; Salpetersäure machte ihn

¹⁾ Dieses Archiv Bd. IV. Hft. 2.

²⁾ Lancet 1847. Med. chirurg. Transact. 1850. XXXIII.

ehrer klarer, nach 1—1½ Stunden trüb und gelblich; allmählich erstarrte das Ganze zu einer glänzenden Masse, welche sich beim Kochen jedesmal löste, beim Erkalten erstarrte. Bence Jones rechnete jene Substanz den Eiweissstoffen zu; seiner Analyse nach ist sie mit dem Tritoxypotein Mulder's identisch. — Sollte es sich bei diesem Körper wirklich um das Oxydationsproduct einer albuminoiden Substanz handeln, so würde nach dem mit aller Reserve ausgesprochenen Urtheil von Virchow ein weiterer Rückschluss auf die Natur des Vorganges (bei der Osteomalacie) in den Knochen als einen wirklichen Verbrennungsprozess gemacht werden müssen.

Das Auffinden dieses eigenthümlichen Eiweisskörpers im pathologischen Knochenmark beanspruchte lebhaftes Interesse, und veranlasste Herr Professor Virchow deswegen meinen Bruder, Dr. Moritz Fleischer, Untersuchungen darüber anzustellen, ob derselbe auch im normalen thierischen und menschlichen Knochenmark nachweisbar sei. Dieselben sind seiner Zeit im chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts in Berlin unter Professor Liebreich begonnen, in Folge äusserer Verhältnisse nicht vollständig zu Ende geführt worden.

Ich habe jene Arbeit wieder aufgenommen und in den letzten Jahren eine grössere Anzahl von Untersuchungen des menschlichen und thierischen Knochenmarkes ausgeführt und will ich nach einer Besprechung dessen, was seit dem Erscheinen von Virchow's Abhandlung über den Bence Jones'schen Eiweisskörper bekannt geworden ist, über die von uns Beiden gewonnenen Resultate an dieser Stelle referiren.

O. Langsdorf und J. Mommsen¹⁾ haben in einem Fall von ausgesprochener Osteomalacie sowohl den Harn als auch das Knochenmark auf die Anwesenheit jenes Körpers geprüft. Der saure Harn wurde beim Kochen trübe, auf Zusatz von Salpetersäure hellte er sich zum Theil auf. Beim Erkalten nahm die Trübung wieder zu. Kalt mit Salpetersäure versetzt zeigt er mässige Trübung, dann gekocht ein ansehnliches Sediment. Mit Essigsäure gekocht starke, im Ueberschuss des Reagens nicht lösliche Trübung. Essigsäure und Ferrocyankalium geben einen Niederschlag. Die

¹⁾ Beiträge zur Kenntniss der Osteomalacie. Dieses Archiv Bd. 69. Hft. 3 u. 4.

Verfasser glauben aus diesen Reactionen auf die Anwesenheit des Eiweisskörpers von Bence Jones (in geringer Menge) schliessen zu können. Meiner Ansicht nach liegt dazu kein Grund vor. Die erhaltenen Reactionen können ganz gut auf die Gegenwart von phosphorsauren Erden (die geringe Menge Phosphorsäure, welche die Verfasser im Harn gefunden haben, spricht nicht dagegen), harnsaure Salze, Mucin und gewöhnliches Eiweiss bezogen werden.

Die Untersuchung des Knochenmarkes wurde von den Verfassern in der Weise vorgenommen, dass eine geringe Menge desselben mit destillirtem Wasser geschüttelt und dann filtrirt wurde. Das röthliche Filtrat war neutral. Beim Kochen entstand eine starke Trübung, welche bei Essigsäurezusatz flockig wurde und sich im Ueberschuss der Säure völlig löste. Essigsäure in der Kälte zugesetzt gab keine, Essigsäure und Ferrocyankalium starke Trübung. In der essigsäuren Lösung und in dem neutralen Filtrat erzeugte Salpetersäure eine stärkere Trübung, welche beim Kochen nur scheinbar verschwand. Die Flüssigkeit wurde klarer, aber beim Erkalten schieden sich bräunlich rothe Flocken aus. Auf Grund jener Beobachtungen glauben Langsdorf und Mommsen nicht in der Lage zu sein, in ihrem Fall die Existenz eines besonderen Eiweisskörpers im Knochenmark behaupten zu können. Auch dieser Annahme kann ich mich nicht anschliessen. Wenn die Verfasser beim Kochen ihres mit Essigsäure versetzten röthlichen Filtrats mit Salpetersäure die Flüssigkeit nur scheinbar klarer werden und röthliche Flocken sich ausscheiden sahen, so beweist das nur, dass gewöhnliches Eiweiss (von Verunreinigung mit Blut herrührend) zugegen war, und dafür sprechen auch die anderen Eiweissreactionen. Dieses musste erst entfernt werden, um jene charakteristische Eiweissreaction (mit Salpetersäure) hervortreten zu lassen, welche in dem von Virchow beschriebenen Fall, in welchem jedenfalls die fragliche Substanz in sehr reicher Menge (und nur in geringem Grade mit gewöhnlichem Eiweiss gemengt) vorhanden war, constatirt wurde.

In neuerer Zeit hat Adamkiewicz¹⁾ auf Grund seiner Beobachtungen über die Eigenschaften des Peptons das Albumindeutoxydhydrat von Bence Jones für Pepton erklärt. Pepton wird, wie Adamkiewicz hervorhebt, durch alle diejenigen Reagentien, welche

¹⁾ Beitrag zur Lehre vom Pepton. Dieses Archiv Bd. 75. S. 144.

unverändertes Eiweiss fällen, selbst durch Salpetersäure aus seinen Lösungen niedergeschlagen, so lange letztere kalt sind. Wie diese Niederschläge nur in der Kälte entstehen, so vergehen sie wiederum schnell in der Wärme. Die Wirksamkeit der verschiedenen Reagentien ist von der Concentration der Peptonlösungen abhängig. Kaltes Wasser und Salpetersäure erfordern die concentrirtesten, Ferrocyankalium und Essigsäure nur diluirte Lösungen; Essigsäure und Chlornatrium stehen in der Mitte. Die Niederschläge sind im Ueberschuss von Salpetersäure löslich. Die eben angeführten Reactionen stimmen mit jenen für den uns interessirenden Eiweisskörper angegebenen gut überein, so dass die Behauptung, dass letzterer wirklich Pepton ist, nicht ohne Weiteres von der Hand zu weisen ist. Stellen wir uns auf den Boden der sogenannten Milchsäuretheorie, welche die Ursachen der Osteomalacie in rein chemischen Vorgängen, besonders der Bildung freier Milchsäure, sucht, und berücksichtigen wir zugleich die Ansicht, dass Pepsin in den verschiedenen Geweben und Organen sich finden soll, so wird das Vorkommen von Pepton gerade im Knochenmark leicht verständlich. Die Bedingungen für die Bildung derselben: freie Säure, Pepsin und Eiweiss, sind in diesem Fall gegeben. Andererseits ist die Annahme von dem Vorkommen freier Milchsäure in dem osteomalacischen Mark noch sehr problematisch. In dem Fall von Virchow zeigte letzteres alkalische, in denjenigen von Langsdorf und Mommsen neutrale Reaction.

Jene beiden Autoren konnten im frischen osteomalacischen Knochenmark weder freie Milchsäure, noch dieselbe an Kalk gebunden auffinden. Um so mehr ist es zu bedauern, dass die Untersuchung auf jenen peptonähnlichen Eiweisskörper keine genauere war. Jedenfalls wäre es wichtig, die behauptete Identität desselben mit Pepton im osteomalacischen Knochenmark sicher festzustellen. Leider ist es mir trotz mannichfacher Bemühungen nicht gelungen, letzteres zur genaueren Prüfung zu erhalten. Da jener Körper das von gewöhnlichem Eiweiss abweichende Verhalten zeigt, in der Kälte auf Zusatz von Salpetersäure auszufallen und sich beim Kochen ebenso wie in einem ganz geringen Ueberschuss von Essigsäure zu lösen, so kann er bei den allgemein üblichen Untersuchungsmethoden des Harns auf Eiweiss leicht übersehen werden. Ich habe eine grössere Anzahl normaler und pathologischer (Eiweiss

enthaltender) Harn auf die Gegenwart desselben untersucht, jedesmal mit negativem Erfolg.

Das gleiche Resultat hatten Untersuchungen des Harns von 3 Frauen¹⁾, welche an ausgesprochener Osteomalacie des Beckens litten. In keinem der Fälle war jener Eiweisskörper, ebenso wenig wie gewöhnliches Eiweiss nachweisbar.

Die von uns ausgeführten Untersuchungen beziehen sich auf Knochen von Menschen, die an acuten oder chronischen Krankheiten zu Grunde gegangen waren, und bei denen das Knochenmark normal war, nur ein Mal wurde leukämisches, ein anderes Mal exquisit rothes Knochenmark (von einem nicht leukämischen Kranken herrührend) verarbeitet; fernerhin auf das Knochenmark von Rindern (Ochsen) und Pferden. — Der Gang der Arbeit war folgender.

Das den Knochen frisch entnommene Mark wurde mit destillirtem Wasser zu einem Brei angerührt, längere Zeit stehen gelassen und durch ein Leinentuch colirt. Das Filtrat reagirte in den meisten Fällen neutral oder schwach alkalisch, nur in einigen wenigen schwach sauer. Dasselbe wurde mit oder ohne Essigsäurezusatz längere Zeit gekocht, dann durch einen Scheidetrichter aus der heissen Flüssigkeit der grösste Theil des Fettes entfernt. Nach weiterer Erwärmung wurde es filtrirt, und durch nochmaliges Eindampfen möglichst von dem gewöhnlichen Eiweiss befreit. Schliesslich erhielt man ein klares Filtrat, welches in der Kälte einen weissen pulverigen Niederschlag fallen liess, der sich beim Erwärmen wieder vollständig löste, beim Erkalten wieder ausfiel u. s. w. Bei Zusatz von Salpetersäure in der Kälte entstand ein ähnlicher, aber stärkerer weisser Niederschlag, welcher ein gleiches Verhalten wie der obige zeigte und sich beim Zufügen von concentrirter Essigsäure auflöste. Im Ueberschuss von Salpetersäure war er nicht löslich. Ein Zusatz von Salpetersäure zur kochenden Lösung rief im ersten Moment ebenfalls einen Niederschlag hervor, der aber schnell wieder verschwand und sich erst beim Erkalten wieder zeigte. Dieselbe Wirkung hatte schwefelsaures Natron. Bei Essigsäurezusatz zu der kalten oder kochenden Lösung blieb dieselbe klar. Ferrocyankalium und Essigsäure gab einen Niederschlag,

¹⁾ Zwei jener Fälle kamen auf der gynäkologischen Klinik zur Beobachtung und stellte mir Herr Professor Zweifel das Material zur Verfügung.

ebenso das Millon'sche Reagens; beim Erwärmen mit letzterem wurde derselbe roth. Wurde die Flüssigkeit mit schwefelsaurem Kupfer und Kalilauge versetzt, so färbte sie sich stets blau-violett (Biuretreaction, Eiweiss), niemals gab sie die charakteristische Peptonreaction (rothe Färbung). Absoluter Alkohol erzeugte einen Niederschlag, welcher sich nur sehr langsam absetzte.

Ein Theil der von gewöhnlichem Eiweiss befreiten Lösung wurde kochend mit Salpetersäure versetzt. Der beim Erkalten sich gut absetzende Niederschlag wurde auf einem kleinen Filter gesammelt, auf Fliesspapier abgepresst, in heissem Wasser gelöst, wiederum in der Kälte mit schwefelsaurem Natron gefällt, mit absolutem Alkohol und dann mit Aether gewaschen und so von dem noch anhaftenden Fett befreit, über Schwefelsäure getrocknet und dann fein verrieben. Nach nochmaliger Behandlung mit Aether (um die letzten Spuren Fett zu entfernen), gab der jetzt reine Körper mit wenig Wasser eine Gallerte, in mehr Wasser löst er sich. Aus der Lösung wird er abgeschieden durch schwefelsaures Natron, Salpetersäure, Gerbsäure, Pikrinsäure, — nicht durch Essigsäure — wohl aber durch Essigsäure und Ferrocyankalium, und durch das Millon'sche Reagens. Mit schwefelsaurem Kupfer und Kali gab er stets die Eiweissreaction, niemals Peptonreaction. Bei Zusatz von absolutem Alkohol zu der wässrigen Lösung trübt sich derselbe nicht, erst nach längerem Stehen setzen sich langsam weisse Flocken ab, welche, auf einem Filter gesammelt, sich schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser auflösen. Die wässrige Lösung dreht im geringen Grad die Polarisationssebene nach links.

Die eben angeführte Methode der Darstellung des Körpers ist häufig abgeändert worden. In einigen Fällen wurde das Knochenmark zuerst mit Aether extrahirt und der Rückstand in heissem Wasser gelöst, in anderen wurde der Körper nicht durch Salpetersäure und schwefelsaures Natron, sondern durch Alkohol abgeschieden und von Eiweiss und Fett befreit. Jedesmal lieferte das eingeschlagene Verfahren einen Körper, welcher die geschilderten Reactionen zeigte. Je häufiger aber derselbe zu seiner weiteren Reinigung gefällt und wieder gelöst worden war, desto mehr schien er sein Lösungsvermögen in heissem Wasser zu verlieren, so dass die Ausbeute, besonders aus menschlichem Knochenmark, von dem stets nur kleine Mengen zur Verarbeitung vorlagen, meist nur eine

sehr geringe war. Am reichlichsten wurde der Körper im mageren, dickflüssigen Knochenmark von Rindern und Pferden aufgefunden, im fetten, festen Mark waren meist nur Spuren vorhanden. Im menschlichen Knochenmark fand sich derselbe immer in geringen Mengen vor; nur einmal fehlte er im exquisit rothen Knochenmark eines nicht leukämischen Mannes ganz.

Vergleichen wir die Eigenschaften dieses von uns im normalen Knochenmark aufgefundenen Körpers mit denjenigen der Peptone, so ist eine gewisse Uebereinstimmung nicht zu verkennen. Die Fällung in der Kälte durch Salpetersäure und die Auflösung in der Wärme ist auch für die letzteren charakteristisch. Dagegen ist Pepton in überschüssiger Salpetersäure löslich, unser Körper nicht.

Ferner giebt Adamkiewicz an, dass die Abscheidung des Peptons aus kaltem Wasser und durch Zusatz von Salpetersäure nur bei stärkerer Concentration vor sich geht. In unserem Fall handelte es sich stets um ganz geringe Mengen und heisse diluirte Lösungen, und trotzdem fiel aus denselben beim Erkalten und Zusatz von Salpetersäure jener Körper aus.

Wir haben dann nach der von Hofmeister¹⁾ angegebenen Methode (Kochen mit Bleioxydhydrat), Entbleiung durch H_2S , Fällung mit Tannin, Behandlung des Tanninniederschlags mit überschüssigem Barythydrat und Entfernung des Baryts durch Schwefelsäure) aus der wässrigen Lösung alle Eiweisskörper entfernt. Der noch bleibende Rückstand gab keine Reaction, weder auf Eiweiss noch Pepton, welches letzteres nach dem angeführten Verfahren rein erhalten werden soll. Wir glauben daher, dass unser Körper nicht mit dem Pepton vollständig identisch, sondern ein Uebergangsproduct zwischen Eiweiss und Pepton ist, jedenfalls aber letzterem näher steht als ersterem.

Von dem durch Virchow beschriebenen Körper weicht er nur darin ab, dass er durch Salpetersäure in der Kälte gefällt, auf weiteren Zusatz concentrirter Essigsäure wieder gelöst wird, während der erstere grade aus der essigsauren Lösung durch Salpetersäure niedergeschlagen wird. In unserem Falle handelte es sich aber, wie angegeben, stets um geringe Mengen, während jene im osteomalacischen Knochen gefundene Gallerte möglicher Weise ganz oder zum grössten Theil aus jenem Eiweisskörper bestand und ist

¹⁾ Hofmeister, Ueber ein Verfahren zur vollständigen Abscheidung des Eiweisses. Zeitschrift f. phys. Chemie. II. 294.

es nicht unwahrscheinlich, dass jenes abweichende Verhalten durch die verschiedene Concentration der Lösungen bedingt wurde, und wir es doch mit ein und demselben Körper zu thun haben. Zudem bezieht sich die Untersuchung von Virchow auf einen mit gewöhnlichem Eiweiss verunreinigten Körper, dessen Gegenwart auf die Reaction möglicherweise von Einfluss war, während von uns derselbe wie angeführt, stets entfernt worden ist. Die Annahme von Bence Jones, dass der Körper oxydirtes Eiweiss (daher der Name Albumindeutoxydhydrat) sei, welche sich darauf stützt, dass der Analyse nach derselbe mehr Sauerstoff enthält, als das gewöhnliche Eiweiss, ist kaum haltbar, da es einerseits sehr fraglich ist, ob Bence Jones einen vollständig reinen Körper zur Bestimmung verwendet hat, andererseits die älteren ihm zu Gebote stehenden Methoden der Elementaranalyse von Eiweisskörpern, neueren Beobachtungen zu Folge sehr mangelhafte waren.

XXV.

Ueber Knochenneubildung im Bindegewebe.

Von Dr. A. Fleischer aus Kiew.

(Aus dem pathologischen Institut zu Strassburg.)

(Hierzu Taf. XIV. Fig. 1—2.)

Die Frage, ob wahres Knochengewebe sich selbständig in anderen Geweben entwickeln kann, ohne mit präexistirendem Knochengewebe in unmittelbarem Zusammenhange zu stehen, ist noch eine streitige; daher dürften nachstehende Resultate meiner Untersuchungen am neugebildeten Knochen nicht ohne einiges Interesse sein.

Dank der Güte des Herrn Prof. v. Recklinghausen hatte ich Gelegenheit zwei Fälle von heterologer Knochenneubildung zu untersuchen. In dem einen Falle hatte sich der Knochen in der Sehne des Ileo-psoas, in dem anderen an der inneren Fläche der Dura mater gebildet.