

VII.

Chemische Untersuchung von Leber und Milz in einem Fall von lienaler Leukämie.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Institutes zu Berlin.)

Von Prof. E. Salkowski.

Durch die gütige Vermittelung von Herrn Prof. Senator gingen dem pathologischen Institut aus dem Augusta-Hospital obige Organe zu, die sich durch grossen Reichthum an sogenannten Charcot'schen Krystallen auszeichneten. Hauptsächlich dieser Umstand veranlasste Herrn Geh.-Rath Virchow, mir die Organe zur chemischen Untersuchung zu übergeben. Ich habe derselben eine etwas grössere Ausdehnung gegeben, da leukämische Milz bisher nur von Scherer¹⁾ und Salomon²⁾, leukämische Leber überhaupt noch nicht untersucht ist.

Der bei der Untersuchung befolgte Gang war im Allgemeinen derselbe, den ich schon früher bei der Untersuchung des Blutes in einem Fall von Leukämie angewendet habe³⁾ und der im Wesentlichen auch von Salomon benutzt ist; einzelne Abweichungen wurden durch die Natur des Untersuchungsobjectes etc. bedingt.

Die Leber wog 2900 Grm. Von dem feinzerhackten Leberbrei wurden 2500 Grm. in Arbeit genommen, mit etwa 10 Liter Wasser bei ganz gelinder Wärme (50 bis 60°) extrahirt, die Auszüge filtrirt und der Rückstand, da sich das Auspressen unthunlich erwies, wiederholt mit lauwarmem Wasser nachgewaschen. Die gesammten Auszüge wurden zuerst schnell unter Zusatz einer kleinen Menge Essigsäure auf freiem Feuer aufgekocht, durch Leinwand filtrirt, eingedampft, zuletzt auf dem Wasserbad, bis zur Syrupsconsistenz (500 bis 600 Cem.) und mit dem doppelten Volumen Alkohol (95 pCt.)

¹⁾ Verh. d. Würzburg. phys.-med. Ges. II. S. 321 u. VII. S. 123.

²⁾ Reichert's u. Dubois-Reymond's Arch. 1876. S. 762.

³⁾ Dieses Archiv Bd. 50. S. 174.

versetzt. Es entstand sofort eine zähe klebrige Fällung von peptonartigen Körpern (A) von der später noch die Rede sein soll. Nach mehrstündigem Stehen wurde abfiltrirt und mit 65 prozentigem Alkohol nachgewaschen. Der alkoholische Auszug wurde abdestillirt und eingedampft: nach 48 stündigem Stehen hatten sich weisse, kreideartige Körnchen in reichlicher Menge ausgeschieden (B), welche nach der mikroskopischen Untersuchung ganz überwiegend aus Tyrosin bestanden. Von diesen wurde abfiltrirt (Filtrat C) und mit kaltem Wasser nachgewaschen.

Die weisse Masse B wurde mit Wasser zum Sieden erhitzt und heiss filtrirt. Der grösste Theil blieb dabei ungelöst, aus dem Filtrat (D) schied sich bei längerem Stehen eine kleine Menge Tyrosin wieder ab, die mit dem ungelöst gebliebenen vereinigt wurde. Das Gewicht des völlig weissen Tyrosin betrug nach dem Trocknen bei 100° 1,718 Grm. Es erwies sich bei genauerer Untersuchung mit kleinen Mengen von Xanthinkörpern verunreinigt: die ammonikalische Lösung gab mit Silberlösung flockigen Niederschlag; jedoch war die Verunreinigung unbedeutend und wurde daher nicht weiter berücksichtigt. Harnsäure war in dem „Tyrosin“ nicht nachweisbar. Das Filtrat D lieferte nach Abscheidung des Tyrosins und starker Concentration ziemlich reines, leicht gelbliches Leucin im Gewicht von 0,864 Grm. Das Filtrat C, welches also die Hauptmasse der im Wasser löslichen Substanzen enthielt, wurde mit verdünnter Schwefelsäure stark angesäuert und wiederholt mit grossen Mengen Aether geschüttelt. Von diesem Aetherauszug soll später die Rede sein. Die schwefelsäurehaltige wässrige Flüssigkeit wurde mit Ammoniak stark alkalisch gemacht, von einer kleinen Menge phosphorsaurer Ammonmagnesia abfiltrirt und mit Silberlösung gefällt: es entstand ein reichlicher gelatinöser Niederschlag der Xanthinsilberverbindungen, der nach dem Gange der Untersuchung auch Harnsäure enthalten konnte. Der Niederschlag wurde genau in der l. c. S. 193 angegebenen Weise bearbeitet: Harnsäure war nicht nachweisbar, dagegen wurde 0,546 Grm. salpetersaures Hypoxanthinsilberoxyd erhalten, entsprechend 0,2426 Grm. Hypoxanthin und 0,538 Grm. anderweitige Xanthinkörper (aus der salpetersauren Lösung nach Abscheidung der Hypoxanthinverbindung durch Zusatz von Ammoniak und Zersetzen des Silberniederschlages mit Schwefelwasserstoff). Im Ganzen wurden also 0,781 Grm. Xanthinkörper aus der Leber

dargestellt. — Der oben erwähnte ätherische Auszug gab beim Abdestilliren einen syrupösen Rückstand, aus dem sich allmäglich kleine Krystalle ausschieden, die durch Absaugen auf Thonplatten von der Mutterlauge getrennt wurden. Ihr Verhalten beim Erhitzen (stark zum Husten reizende Dämpfe) liess Bernsteinsäure vermuthen. Daraufhin wurden die Krystalle in Wasser gelöst und durch Zusatz von basischem Bleiacetat unter Erwärmen die charakteristische, körnige, schwere Bleiverbindung der Bernsteinsäure erhalten. Aus dieser konnte durch Lösen in Essigsäure und Zersetzen mit Schwefelwasserstoff 0,0852 Grm. völlig reine Bernsteinsäure vom Schmelzpunkt 183° isolirt werden. Die Säure wurde in das Ammonsalz übergeführt und aus dieser durch Fällung mit salpetersaurem Silber das Silbersalz dargestellt.

0,1876 Grm. des über Schwefelsäure getrockneten Silbersalzes hinterliess beim Glühen 0,1207 Grm. metallisches Silber = 64,3 pCt. Bernsteinsaures Silber erfordert 65,1 pCt. Die Bernsteinsäure ist somit mit Sicherheit nachgewiesen.

Aus der ammoniakalischen Lösung, die nach Ausfällung der Xanthinverbindungen resultirte, konnten ausser Resten von peptonartigen Körpern und Leucin keine gut charakterisierten Substanzen isolirt werden, namentlich gelang es nicht, Krystalle vom Habitus der Charcot'schen wieder zu erhalten.

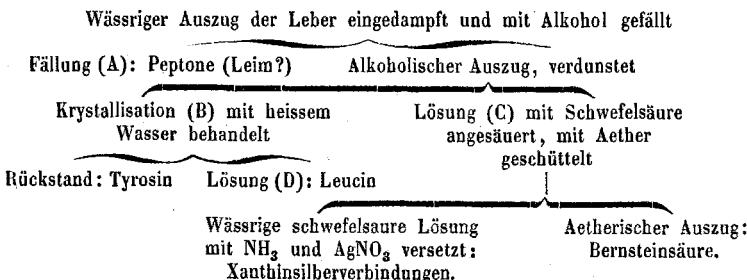
Es ist nun noch von dem ersten Alkoholniederschlag A zu berichten. Nach den an leukämischem Blut und Milz gemachten Erfahrungen durfte man in demselben Leim oder einen leimartigen Körper erwarten. Diese Voraussetzung bestätigte sich indessen nur sehr unvollständig. Der mit Alkohol gut ausgewaschene und dann an der Luft getrocknete Niederschlag (Gewicht 32 Grm.) löste sich in Wasser bei Digestion auf dem Wasserbad fast ohne Rückstand auf. Die Lösung zeigte nur eine sehr schwache Neigung zu gelatiniren. Die Lösung gab mit Natronlauge und Kupfersulfat die dem Pepton zukommende Rothfärbung; sie zeigte mit Essigsäure und Ferrocyankalium schwache Trübung. Eine Probe der Lösung gab mit Essigsäure angesäuert und dann mit concentrirter Kochsalzlösung versetzt, eine geringe beim Erwärmen verschwindende, beim Erkalten wieder auftretende Trübung. Dasselbe zeigte sich bei Zusatz von Salpetersäure.

Das sind die Reactionen des von Bence Jones beschriebenen,

von Virchow¹⁾ in osteomalacischen Knochen gefundenen „Protein-deutoxyd“, welches Kühne²⁾ als Verdauungsproduct erhalten und Hemialbumose genannt hat³⁾.

Die Reactionen waren jedoch alle schwach und die Hauptmasse der Substanz jedenfalls nicht Hemialbumose. Die weitere Untersuchung stiess auf erhebliche Schwierigkeiten. Methoden zur Trennung von Pepton und Leim besitzen wir bisher nicht, man ist vielmehr auf die Untersuchung der Zersetzungspredkte angewiesen. Ein ansehnlicher Theil des Niederschlages wird daher ungefähr 20 Stunden mit verdünnter Schwefelsäure (1 : 3) gekocht. In der Lösung wurde Leucin gefunden, dagegen konnte weder Tyrosin, noch Glycocol entdeckt, also weder die Pepton-, noch die Leimmatur des Niederschlages festgestellt werden. An der Anwesenheit peptonartiger Körper ist nach allem Vorerwähnten trotz der nicht geglückten Tyrosinbildung nicht zu zweifeln, dagegen bleibt die Anwesenheit des Glutins zweifelhaft.

Zur leichteren Uebersicht möge hier das Schema des Ganges der Untersuchung Platz finden.



¹⁾ Dieses Archiv Bd. IV. S. 309.

²⁾ Verhandl. des naturhist.-med. Vereins zu Heidelberg. Bd. I. Hft. 4.

³⁾ Adamkiewicz beschreibt diese Reaction als dem Pepton zukommend (Natur und Nährwerth des Peptons. Berlin 1877). Das Pepton von Adamkiewicz enthält aber zwei von einander trennbare Substanzen: nehmlich die Hemialbumose und wahres Pepton, welches diese Reactionen nicht zeigt. Auch Schmidt-Mülheim hat neuerdings (Du Bois-Reymond's Archiv für Physiol. 1880. S. 34) auf diese Thatsache hingewiesen und ein Verfahren beschrieben, welches gestattet, das Adamkiewicz'sche Pepton von der Hemialbumose zu befreien. Die Hemialbumose ist unzweifelhaft ein Zwischenproduct zwischen Eiweiss und Pepton und insofern der von Schmidt vorgeschlagene Name „Propepton“ nicht unzweckmässig gewählt, doch wirft Schmidt wiederum das Propepton mit Syntonin (Parapepton) zusammen. Ich gedenke bei einer anderen Gelegenheit auf diesen Punkt näher einzugehen.

Fassen wir das Resultat der Leberuntersuchung zusammen, so sind also gefunden und zwar in 2500 Grm. Leber:

Peptonartige Substanzen in erheblicher Menge, Tyrosin (1,718 Grm.), Leucin (0,864 Grm.), Hypoxanthin (0,2426 Grm.), andere Xanthinkörper (0,538 Grm.), kleine Mengen von Bernsteinsäure, dagegen fehlte auffallender Weise die Harnsäure. Fragt man nun, welche Bedeutung diesen Befunden zukommt, so fällt die Antwort ziemlich unbefriedigend aus, hauptsächlich wegen des Mangels an genügendem Vergleichsmaterial.

Peptonartige Substanzen scheinen in den Leberauszügen bisher nicht gefunden zu sein, es ist jedoch sehr möglich, dass sie nicht genügend beachtet sind. Im vorliegenden Fall muss noch die Frage in Betracht gezogen werden, ob die peptonartigen Substanzen in der Leber präformirt waren und wenn dieses, ob sie nicht vielleicht Producte von Fäulniss sind. Was den ersten Punkt betrifft, so ist bisher für reine Eiweisskörper bekannt, dass sie nur bei sehr lange fortgesetztem Kochen Pepton bilden und auch dann nur sehr kleine Mengen. Der Leberauszug ist unter gelindem Erwärmten hergestellt und die Erwärmung auch nur kurze Zeit fortgesetzt. Mag nun aber selbst zugegeben werden, dass die aus reinem Eiweiss gewonnenen Erfahrungen sich nicht ohne Weiteres auf Organe übertragen lassen, so kann man doch so viel sicherlich annehmen, dass sich durch die Behandlung der Leber nur Spuren von Pepton gebildet haben können, die Hauptmenge schon zur Zeit der Untersuchung in der Leber vorhanden war. Einer eigentlichen Fäulniss können die Peptone ihre Entstehung nicht wohl verdanken; dagegen spricht der beträchtliche Gehalt der Leber an Xanthinkörpern, welche nach Salomon, wenn vorhanden, bei der eigentlichen intensiven Fäulniss wieder verschwinden¹⁾. Einstweilen lässt sich über die Bedeutung des Befundes, ehe weitere Untersuchungen nach dieser Richtung angestellt sind, nichts aussagen.

Leucin ist ein normaler Bestandtheil der Leber (Frerichs und Städeler; Radziejewski¹⁾; Tyrosin kommt in normaler Leber nicht vor, wohl aber pathologisch: Gorup-Besanez führt in seinem Lehrbuch der physiologischen Chemie (3 Aufl. S. 722) eine grosse Reihe von Erkrankungen auf, bei denen Tyrosin in der Leber beobachtet ist ohne nähere Angabe des Autors, Kühne (Lehr-

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges. XI. S. 576.

buch S. 419) erwähnt nur die acute gelbe Leberatrophie. Experimentell ist kürzlich Tyrosingehalt der Leber gefunden bei Phosphorvergiftung [Sotnischewsky¹⁾]. Man könnte geneigt sein, auch diesen Befund als Fäulnisserscheinung zu deuten, doch spricht, wie bereits bemerkt, die Gegenwart so grosser Mengen von Xanthinsubstanzen gegen eigentliche Fäulniss. Dagegen will ich nicht in Abrede stellen, dass das Tyrosin vielleicht an Menge nach dem Tode zugenommen hat. G. Salomon²⁾ hat vor einiger Zeit das höchst merkwürdige Factum der postmortalen Hypoxanthinbildung im Blut entdeckt. Salomon hat durch umfangreiche Untersuchungen festgestellt, dass das vorher hypoxanthinfreie Blut hypoxanthinhaltig wird, wenn man es nach dem Tode in Berührung mit den Körpergeweben lässt. Ebenso fand Salomon in sofort nach der Abtrennung untersuchten Muskeln eines amputirten menschlichen Beins kein Hypoxanthin, während sein Vorkommen in den ohne diese Cautelen d. h. nach einiger Zeit verarbeiteten Muskeln feststeht (von dem Vorkommen desselben in menschlichen Leichenmuskeln habe ich mich selbst gelegentlich überzeugt). Salomon betrachtet mit Recht diese postmortale Hypoxanthinbildung nicht als eigentliche Fäulnisserscheinung, da die Bakterienfäulniss Hypoxanthin zerstört, sondern als eine Fortsetzung des vitalen Chemismus³⁾. Dass sich im lebenden Blut Hypoxanthin nicht findet, liegt an der, die Spaltungsvorgänge im Leben begleitenden und auf's Innigste mit ihr verknüpften Oxydation, welche nach dem Tode nur in äusserst geringem Umfang, nehmlich bis zum Verbrauch des gerade vorhandenen Vorrathes an Sauerstoff fortgeht. Man wird diese Betrachtungsweise mit allem Recht auch auf andere Stoffwechselproducte der Organe anwenden dürfen und es wird durch dieselbe, wie mir scheint, der Untersuchung an Leichentheilen ein Gebiet zurückerobert. Man wird nicht mehr Alles, was sich dabei findet, schlechtweg als Leichenerscheinung von der Hand weisen dürfen. Immer bleibt freilich grosse Vorsicht in der Beurtheilung des Befundes nothwendig, da die Complication mit wirklicher Fäulniss natürlich nicht ausgeschlossen ist.

K. Huber⁴⁾ hat vor einiger Zeit nachzuweisen gesucht, dass

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. III. S. 391.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. II. S. 65.

³⁾ Vgl. auch G. Salomon in Charité-Annalen. N. F. Bd. V. 1.

⁴⁾ Arch. der Heilkunde. XVIII. S. 485.

die sogenannten Charcot'schen Krystalle nichts Anderes, wie Tyrosin seien und wird in dem vorliegenden Fall vielleicht eine Bestätigung seiner Anschauung finden; ich bin durch die Argumentation von Huber jedoch nicht überzeugt. Der Haupteinwand, den man dagegen machen kann, ist der, dass das Tyrosin niemals die Formen der Charcot'schen Krystalle zeigt. Da die Untersuchung keinerlei Material zur Beurtheilung der Natur der Krystalle ergeben hat, so gehe ich auf diese Frage hier nicht weiter ein.

Für die Xanthinkörper und speciell das Hypoxanthin hat Salomon, wie bereits erwähnt, nachgewiesen, dass es im Leichenblut regelmässig vorhanden ist, unabhängig von der Natur der Krankheit, während des Lebens dagegen fehlt. Salomon wird durch seine Untersuchungen zu der Ansicht geführt, dass dem Hypoxanthin bei der Leukämie keine specifische Bedeutung zukommt. Ich kann diesem Schluss nicht unbedingt bestimmen. Die pathognostische Bedeutung hat das Hypoxanthin allerdings verloren, aber es bleibt doch sehr bemerkenswerth, dass das Leichenblut bei Leukämie nach den Bestimmungen von Salomon weit mehr Hypoxanthin enthält, wie bei anderen Krankheiten. Im Mittel von 4 quantitativen Bestimmungen bei Leukämie berechnet sich der Gehalt an Hypoxanthin zu 0,57, im Mittel von 18 Bestimmungen bei anderen Krankheiten (Anämie, Pneumonie, Vitium cordis, Phthisis, Bronchitis etc.) zu 0,28 pro 10,000. Auch die Menge der Xanthinkörper in den Organen ist so auffallend gross, dass man den Gedanken specifischer Beziehungen des Hypoxanthin zur Leukämie doch nicht abweisen kann: es liegt sehr nahe hierbei an die lymphatischen Elemente selbst zu denken, das Hypoxanthin als specifisches Stoffwechselproduct derselben anzusehen. Die postmortale Bildung desselben widerspricht der Ansicht der Specificität nicht, denn, wenn wir die unmittelbar nach dem Tode ablaufenden Vorgänge als Fortsetzung des vitalen Prozesses ansehen, so können wir gewiss auch voraussetzen, dass von dem normalen abweichende Vorgänge, die zur Bildung abnormer Substanzen führen oder zu einer Veränderung der Mengenverhältnisse der Stoffwechselproducte zu einander, dass solche Prozesse auch in derselben Specificität weiter verlaufen werden.

Was endlich die Bernsteinsäure betrifft, so ist dieser Befund für die Leber bisher ein isolirter, jedoch kommt ihm schwerlich eine pathognostische Bedeutung zu. Mit Sicherheit ist bisher Bern-

steinsäure in Rindermilz gefunden (Gorup-Besanez) und mitunter im Liebig'schen Fleischextract (Weidel) und in der Echinococcen-Flüssigkeit, mit Wahrscheinlichkeit in vielen anderen Drüsen. In ganz frischen, unmittelbar nach dem Tode verarbeiteten Muskeln fand ich keine Bernsteinsäure, wohl aber in nicht physiologisch frischem Fleisch; vermutlich ist auch die Bernsteinsäure ein solches postmortales Product, wie das Hypoxanthin; sie bildet sich reichlich bei der Fäulniss¹⁾. Abgesehen von der Bernsteinsäure stimmt der Befund in der Leber sehr nahe mit dem von Salomon für die Milz festgestellten, vielfach auch mit dem Scherer'schen überein. In der Milz fand Salomon gleichfalls viel Tyrosin und Leucin, und Hypoxanthin, hier wie dort fehlte bemerkenswerther Weise die Harnsäure, die als constanter Bestandtheil der Leber gilt; nur die Menge der Xanthinkörper ausser dem Hypoxanthin scheint in der Milz nicht so gross gewesen zu sein, eine Zahlenangabe findet sich bei Salomon darüber nicht. Eine weitere Abweichung liegt in dem Verhalten des Alkoholniederschlages A, der in unserem Fall mindestens überwiegend aus Peptonen bestand.

Die Untersuchung der Milz ist nach demselben Gange unter meiner Leitung von Herrn Dr. Jul. Stern ausgeführt, dem ich für seine freundliche Unterstützung meinen verbindlichsten Dank ausspreche. — Das Gewicht der Milz betrug 2854 Grm., davon wurden 2500 verarbeitet. Der Befund stimmt mit dem bei der Leber festgestellten sehr nahe überein.

Der Alkoholniederschlag (A), an Menge sehr reichlich (die Gewichtsbestimmung ist leider verloren gegangen), zeigte genau dasselbe Verhalten, wie bei der Leber: Spuren des Bence Jones'schen Eiweisskörpers (Hemialbumose Kühne's). Die Hauptmasse Pepton, durch alle Reactionen constatirt, Glutin oder ein leimartiger Körper nicht sicher nachweisbar. Zur Feststellung der Zersetzungspoducte diente in diesem Fall nicht Kochen mit Schwefelsäure, sondern die Bakterienfäulniss.

Leim und Eiweiss resp. Pepton unterscheiden sich hinsichtlich ihrer chemischen Constitution u. A. dadurch, dass das Eiweiss eine hydroxylirte aromatische Atomgruppe enthält, dem Leim dieselbe fehlt. Daher giebt Eiweiss die Millon'sche Reaction, bildet

¹⁾ E. und H. Salkowski, Ber. d. deutsch. chem. Ges. XII. S. 317.

beim Kochen mit Säuren Tyrosin, bei der Fäulniss Phenol und aromatische Oxysäuren: Oxyphenylessigsäure resp. Hydroparacumaräsäure. Leim giebt die Millon'sche Reaction nicht und bildet weder Tyrosin, noch Phenol, noch aromatische Oxysäuren [O. Nasse, E. Baumann, L. Brieger, Th. Weyl, H. und E. Salkowski¹⁾]. Liefert also ein seiner Natur nach zweifelhaftes Gemisch bei der Fäulniss Phenol und aromatische Oxysäure, so ist damit seine Eiweiss- resp. Peptonnatur bewiesen, allerdings nicht ausgeschlossen, dass es auch Leim beigemischt enthält.

Die Hauptmenge des Alkoholniederschlages, in Wasser gelöst, wurde mit kohlensaurem Natron stark alkalisch gemacht, mit einigen Tropfen faulender Fleischflüssigkeit geimpft und 5 Tage bei 40° sich selbst überlassen. Es trat bald die intensivste Fäulniss mit massenhafter Bakterienentwicklung ein. Nach 5 Tagen wurde auf Phenol und Oxysäuren untersucht, beide fanden sich in ansehnlicher Menge, die Oxysäure war Hydroparacumaräsäure. Der Alkoholniederschlag ist somit der Hauptsache nach sicher Pepton, eine Beimengung von Glutin allerdings nicht ausgeschlossen. Dieser Befund steht in einem auffallenden Widerspruch mit allen früheren Angaben, die Glutin oder einen diesem sehr nahestehenden Körper in der Milz (Scherer, Salomon) und im Blut (Scherer, E. Salkowski, Gorup-Besanez, Salomon) constatirten.

In der alkoholischen Lösung aus der Milz fand sich 0,426 Grm. Tyrosin, 0,368 Grm. Hypoxanthin, 0,134 Grm. anderweitiger Xanthinkörper. Bernsteinsäure konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden, Harnsäure fehlte, ebenso wie in dem Fall von Salomon.

¹⁾ Ich citire absichtlich summarisch, da es unmöglich ist, in Kürze dem Verdienst eines jeden der Autoren gerecht zu werden.
