

XXXI.

Über die autolytische Milchsäurebildung in pathologischer Leber.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Institutes der Universität Berlin.)

Von

Dr. Hassan Youssef
aus Konstantinopel.

Bekanntlich zeichnet sich der Mageninhalt bei bestehendem Magenkarzinom durch seinen Gehalt an Milchsäure aus, die zwar auch beim Gesunden nicht ganz fehlt, aber doch nur im Anfange der Verdauung zu finden ist. Es schien von Interesse, zu untersuchen, ob zwischen Karzinom und Milchsäuregehalt bzw. Milchsäurebildung ein Zusammenhang besteht. Es war zu erwarten, daß wenn dies in der Tat der Fall ist, die vermehrte Milchsäurebildung bei der Autolyse besonders hervortreten werde, die man jetzt ja ziemlich allgemein, sofern Bakterientätigkeit ausgeschlossen ist, nicht als Leichenphänomen, sondern als eine modifizierte Fortsetzung der Lebenserscheinungen auffaßt, modifiziert namentlich durch den Fortfall der Oxydationserscheinungen und regulatorischer, von den Zellen ausgehender Einflüsse. Selbstverständlich durften die Untersuchungen sich nicht auf karzinomatöse Lebern beschränken, da sonst ja jeder Vergleichsmaßstab gefehlt hätte, es mußten vielmehr die bei den Sektionen erhaltenen Lebern ohne besondere Auswahl untersucht werden. Von diesen Gesichtspunkten aus forderte mich Herr Prof. E. Salkowski zu den folgenden Untersuchungen auf, die unter seiner Leitung ausgeführt sind.

Die untersuchten Lebern stammen mit Ausnahme von zwei aus dem Pathologischen Institute der Universität.

Ehe ich zur Mitteilung meiner Resultate übergehe, sei es mir gestattet, einige Fragen kurz zu besprechen, die für das Ergebnis von einschneidender Bedeutung sind, nämlich die Frage nach dem Vorkommen von präformierter Milchsäure in der Leber und ihre autolytische Bildung in der gesunden Leber und die Art der Versuchsanstellung sowie die Methode der quantitativen Bestimmung der Milchsäure.

Über das Vorkommen von präformierter Milchsäure in der Leber, namentlich der menschlichen, ist wenig Sicheres bekannt. Allerdings führt sie Gorup-Bezenz in seinem Lehrbuch der physiologischen Chemie als Bestandteil der Leber des Menschen an, indessen ohne näheren Nachweis; Hoppel-Seyler erwähnt sie in seiner Physiologischen Chemie nicht. Die neueren Lehrbücher und Handbücher sprechen sich über das Vorkommen in der Leber sehr unbestimmt aus oder erwähnen es nur summarisch, z. B. heißt es in dem Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse von Hoppel-Seyler-Thierfelder, 8. Auflage (1909), S. 74: „Die d-Milchsäure („Fleischmilchsäure“ oder „Paramilchsäure“) findet sich in den Muskeln, also auch im Fleischextrakt und in den verschiedensten Organen, auch im Gehirn.“ Eine bestimmte Angabe über das Vorkommen in der Leber im physiologisch-frischen Zustande macht

M o r i s h i m a¹⁾ nach seinen unter Leitung von R. B ö h m angestellten Untersuchungen. M. konnte Fleischmilchsäure als konstanten Bestandteil der Leber von Hunden, Katzen und Kaninchen erweisen. B. T ü r k e l²⁾ konnte diesen Befund auch für die Leber von Rindern und Schweinen bestätigen, dagegen scheinen Angaben über nicht pathologisch veränderte Menschenleber nicht vorzuliegen.

Die ersten sicheren Angaben über a u t o l y t i c h e M i l c h s ä u r e b i l d u n g in der Leber röhren von M a g n u s - L e v y³⁾ her, allerdings war die Quantität der bei der antiseptischen Autolyse gebildeten Milchsäure trotz vorheriger monatelanger Ausdehnung der Autolyse nur gering. M a g n u s - L e v y hat die Quantität der p r ä f o r m i e r t e n Milchsäure in seinen Versuchen nicht bestimmt. Er konnte dies unterlassen, da nach den Angaben von M o r i s h i m a die Quantität der Milchsäure in Tierlebern nur sehr gering ist. Dieser Autor gibt im Mittel als Gehalt für 100 g Leber 0,113 g an. Dabei ist diese Angabe wahrscheinlich noch zu hoch (siehe hierüber weiter unten). T ü r k e l (a. a. O.) wies die Milchsäurebildung bei der antiseptischen Autolyse unter Anwendung von Toluol durch direkte Bestimmung v o r und n a c h der Autolyse nach. Versuche mit menschlicher Leber scheinen bisher nicht vorzuliegen, doch dürfte man per analogiam eine autolytische Milchsäurebildung auch in dieser wohl erwarten.

Was die Anstellung meiner Versuche betrifft, so handelt es sich in erster Linie um die Wahl des antiseptischen Mediums. Von antiseptischen Flüssigkeiten sind für den vorliegenden Zweck nur zwei im allgemeinen Gebrauch: das von E. S a l k o w s k i zuerst empfohlene Chloroformwasser und das von E m i l F i s c h e r eingeführte Toluolwasser mit Überschuß an Toluol. Es wird wohl allgemein angenommen, daß das Chloroform den autolytischen Vorgang etwas behindert, daß derselbe also bei Anwendung von Toluol in größerem Umfange vor sich geht. K i k k o j i⁴⁾ hat diese allgemeine Annahme durch direkte Versuche im Laboratorium von E. S a l k o w s k i bestätigt und weiterhin festgestellt, daß diese Behinderung sich ganz besonders dann bemerkbar macht, wenn man nicht allein Chloroformwasser anwendet, sondern außerdem noch einen Überschuß an Chloroform hinzusetzt, allein es hat sich gleichzeitig gezeigt, daß das Toluolwasser mit überschüssigem Toluol doch nicht denselben Grad von Sicherheit bietet wie das Chloroformwasser, da in zwei Versuchen von fünf angestellten beim Überimpfen auf Nährgelatine mittels des Strichverfahrens Bakterienwachstum beobachtet werden konnte, was bei Chloroformwasser nie der Fall war. Interessanterweise zeigte sich auch, daß durch die gleichzeitige Anwendung von Toluol und Chloroformwasser eine gewisse Unsicherheit in den Versuch eingeführt wurde, indem unter Umständen auch diese Mischungen nicht sicher steril waren. Der Grund dieser Erscheinung wurde darin gefunden, daß bei dem häufigen Umschütteln das im Wasser gelöste Chloroform in das Toluol überging, daß es „ausgeschüttelt“ wurde.

Auf Veranlassung von E. S a l k o w s k i hat nun Y o s h i m o t o⁵⁾ und später auch K i k k o j i (a. a. O.) noch eine Anzahl anderer bekannter Antiseptika bezüglich ihres Einflusses auf die Autolyse geprüft und die O p t i m a der Wirkung festgestellt. Dieselben lagen für Borsäure bei 1 %, Alkohol 5 %, Salizylsäure in halbgesättigter Lösung, Senfölwasser $\frac{1}{8}$ gesättigt.

Setzt man die Quantität des bei Anwendung von Chloroformwasser in Lösung gehenden Stickstoffs = 100, so beträgt sie bei:

Borsäure	192,
Salizylsäure	234,
Senfölwasser	181,
Alkohol	178.

¹⁾ M o r i s h i m a , Arch. f. exper. Path. u. Pharm. Bd. 43, S. 217, 1901.

²⁾ B. T ü r k e l , Bioch. Ztschr. Bd. 20, S. 431, 1909.

³⁾ M a g n u s - L e v y , Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiol. u. Path. Bd. 2, S. 261, 1902.

⁴⁾ Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 63, S. 109, 1909.

⁵⁾ Y o s h i m o t o , Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 58, S. 341, 1908/09.

Selbstverständlich sind diese Resultate nur dann für die Autolyse beweisend, wenn die Mischungen sich bei der Überimpfung auf Gelatine steril erweisen. Dies war nach dem Verf. auch der Fall, indessen hat sich später erwiesen, daß die gewöhnlich geübten Stichkulturen nicht absolut beweisend, vielmehr Strichkulturen erforderlich sind.

Kikuchi hat diese antiseptischen Mittel noch um zwei vermehrt, welche sichere Garantie gegen Bakterienentwicklung gewähren sollen, nämlich gesättigte Benzoesäurelösung und $1/_{32}$ % Formaldehyd. Kikuchi fand die Wirkung des Chloroformwassers = 100 gesetzt, die Wirkung des Formaldehyds = 164, die der Benzoesäure = 242.

Da diese Mittel aber noch wenig erprobt sind, wurde doch die Anwendung von Chloroformwasser vorgezogen, welches gegen die Mitwirkung von Bakterien absolute Garantie gibt.

Was die Anstellung der Versuche betrifft, so ist das in der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts übliche Verfahren so oft beschrieben, daß ich mich auf einige Worte beschränken kann.

100 g der betreffenden feingehackten Leber wurden in einem breithalsigen Glasstöpselgefäß mit 1 l gesättigtem Chloroformwasser übergossen, gut durchgeschüttelt, dann auf 72 Stunden in den Thermostaten gestellt (40°). Nach Ablauf dieser Zeit wurde der ganze Inhalt des Glases in eine emaillierte eiserne Schale entleert, etwas nachgespült und zum Sieden erhitzt. Reagierte die Mischung dabei sauer, so konnte man sicher sein, daß alle Eiweißsubstanzen dabei auskoagulierten, reagierte sie nicht sauer, so wurde sogenanntes saures phosphorsaures Kali (primäres Kaliumphosphat KH_2PO_4) in Lösung bis zu stark saurer Reaktion hinzugesetzt. Nachdem die Mischung völlig erkaltet, wurde sie mit dem Koagulum in einen Meßzylinder gebracht und durch Wasserzusatz genau das Volumen von 1000 ccm hergestellt, dann durch ein nicht angefeuchtetes Filter in ein trockenes Gefäß filtriert. Man erhielt gegen 900 ccm Filtrat. 800 ccm wurden zur Bestimmung der Milchsäure verwendet, außerdem vielfach der in Lösung gegangene Stickstoff in 50 ccm nach Kjeldahl (mit Quecksilberoxydzusatz) bestimmt und auf 1000 umgerechnet (entsprechend 100 g Leber). Zur Bestimmung der Milchsäure wurden die 800 ccm eingedampft und gründlich mit Alkohol ausgezogen, der alkoholische Auszug abgedampft und mit Wasser aufgenommen. Die Lösung mit verdünnter Schwefelsäure bis zur starken Reaktion auf Congopapier angesäuert und im Zellmanowitz'schen Extraktionsapparat 12 Stunden mit Äther extrahiert, der Ätherauszug dann abgetrennt, durch ein trockenes Filter filtriert, abdestilliert und zur Entfernung von flüchtigen Fettsäuren auf dem Wasserbad eingedampft. Zur Abscheidung der im Rückstande möglicherweise vorhandenen Bernsteinsäure und Spuren von Schwefelsäure wurde die wässrige Lösung mit einer Messerspitze Bleikarbonat auf dem Wasserbade zur Trockene gedampft, dann der Rückstand wieder mit Wasser behandelt und filtriert. Aus dem Filtrat wurde das gelöste Blei durch Schwefelwasserstoff entfernt, vom Schwefelblei abfiltriert und eingedampft.

Zur Bestimmung der Milchsäure haben nun die meisten Autoren durch Kochen mit Zinkkarbonat die Milchsäure an Zink gebunden, die abfiltrierte Lösung eingedampft und den Rückstand nach längerem Stehen im Exsikkator gewogen, indem sie ihn als milchsaures Zink betrachteten und aus diesem die Milchsäure berechneten. So ist auch Morishima zu Werke gegangen. Dieses Verfahren muß notwendig zu hohe Werte geben, da das milchsaure Zink nicht als rein betrachtet werden kann. Sagt doch Morishima selbst:

„Behufs weiterer Untersuchung wurde das Zinklaktat durch Tierkohle gereinigt und aus Wasser umkristallisiert.“ Wir haben es vorgezogen, nach dem Vorgange von Magnus-Ley die erhaltene Milchsäure mit Zehntelnormallauge zu titrieren. Die zur Herstellung neutraler Reaktion gebrauchte Anzahl der Kubikzentimeter Zehntelnormallauge entspricht der vorhandenen Milchsäure in 800 ccm Auszug. Sie muß mit $5/4$ multipliziert werden, um auf die ganze Quantität (1000 ccm) Auszug entsprechend 100 g Leber zu kommen. Hieraus berechnet man nun die Milchsäure. Da das Molekulargewicht der Milchsäure 90 ist, so entspricht 1 ccm Normallauge 90 mg Milchsäure, 1 ccm Zehntelnormallauge 9 mg. In sehr vielen Fällen wurde auch der Trockengehalt und die Asche der Leber bestimmt, dagegen wurde auf die gesonderte Bestimmung der

präformierten Milchsäure verzichtet, weil doch in den meisten Fällen das zur Verfügung stehende Material hierzu nicht ausreichte.

Die Tabelle I ergibt die erhaltenen Resultate in chronologischer Reihenfolge

T a b e l l e I.

Nummer von der Sektion 1911	Nummer des Versuches	Krankheiten	Gebrauchte Natronlauge 1/10 normal	Milchsäure i. Milligramm aus 100 g pathologischer Leber	Wasser in 100 g Leber	Asche in 100 g Leber	In Lösung gegangener Stickstoff aus 100 g Leber
639	1	Pneumonie; parenchymatöse Leber	9,25	83,3	74,36	1,37	—
642	2	Arteriosklerose; atrophische Leber	10,65	95,9	63,14	1,38	—
650	3	Syphilis und Zungenkarzinom	13,0	117,0	76,83	1,34	—
678	4	Basedow und Diabetes	25,6	230,4	75,2	1,24	—
682	5	Diphtherie	4,0	36,0	74,35	1,25	—
692	6	Bronchopneumonie; Fettleber	9,5	85,5	55,4	1,39	—
696	7	Arteriosklerose; Muskatleber	15,25	137,3	77,1	1,36	—
697	8	Magenkarzinom; Leber ohne Metastase, beginnende Leberzirrhose	6,0	54,0	76,2	1,37	—
700	9	Larynxkarzinom	14,25	128,25	—	—	—
709	10	Polyarthritis gonorrhoeica	1,6	14,95	—	—	—
711	11	Gallenblasenkarzinom, Leber mit Metastasen	22,8	205,65	—	—	2,226
716	12	Magenkarzinom mit Lebermetastase	22,5	202,65	—	—	1,134
	13	Magenkarzinom; Muskatleber	27,5	247,5	55,35	1,41	—
	14	Diphtherie; normale Leber	16,35	147,15	60,4	1,39	1,19
739	15	Scharlach, Tuberkulose; Fettleber mit Tuberkeln	43,0	387,0	—	—	1,386
745	16	Diabetes, Leberzirrhose	11,0	99,0	—	—	—
753	17	Basedow	15,5	139,5	—	—	1,792
761	18	Peritonitis, Emphysem, Erysipel	14,35	129,15	—	—	0,997
763	19	Operierter Uteruskrebs; Leber ohne Metastase	20,25	182,25	—	—	1,482

Um zu sehen, ob sich aus den Zahlen irgendwelche Schlußfolgerungen ziehen lassen, habe ich in Tabelle II die Zahlen in aufsteigender Linie geordnet.

Zur Beurteilung eines etwaigen Zusammenhanges der Quantität der Milchsäure mit dem pathologischen Befunde scheint es mir zweckmäßig, die Zahlen in Gruppen zu ordnen.

Die erste Gruppe umfaßt die Zahlen unter 0,1 g, die zweite 0,1 bis 0,2 g, die dritte 0,2 bis 0,3 g, die vierte 0,3 bis 0,4 g.

Tabelle II.

Krankheiten	Gebrauchte Zehntel- Normal- lauge	Milchsäure in Milligramm aus 100 g patholo- gischer Leber	Wasser in 100 g Leber	Asche in 100 g Leber	In Lösung gegangener Stickstoff aus 100 g Leber
Polyarthritis gonorrhoeica	1,65	14,95	—	—	—
Diphtherie	4,0	36,0	74,35	1,25	—
Magenkarzinom, keine Metastasen; beginnende Leberzirrhose	6,0	54,0	76,2	1,37	—
Bronchopneumonie; Fettleber	9,5	85,5	55,4	1,39	—
Pneumonie; parenchymatöse Leber	9,25	83,3	74,39	1,37	—
Arteriosklerose; atrophische Leber	10,65	95,9	63,14	1,38	—
Diabetes; Leberzirrhose	11,0	99,0	—	—	—
Syphilis und Zungenkarzinom	13,0	117,0	76,83	1,34	—
Larynxkarzinom	14,25	128,25	—	—	—
Peritonitis, Emphysem, Erysipel	14,35	129,15	—	—	0,997
Arteriosklerose; Muskatleber	15,25	137,3	77,1	1,36	—
Basedow	15,5	139,5	—	—	1,792
Diphtherie; normale Leber	16,35	147,15	60,4	1,39	1,19
Operierter Uteruskrebs ohne Lebermetastasen	20,25	182,25	—	—	1,482
Magenkarzinom mit Lebermetastasen	22,5	202,5	—	—	1,134
Gallenblasengangskarzinom mit Lebermetastase	22,85	205,65	—	—	—
Basedow und Diabetes	25,6	230,4	75,2	1,24	2,226
Magenkarzinom mit Lebermetastasen	27,5	247,5	55,35	1,41	—
Scharlach, Tuberkulose; Fettleber mit Tuberkeln	43,0	387,0	—	—	1,386

Die erste Gruppe enthält unter 7 untersuchten Fällen einen Fall von Magenkarzinom ohne Metastasen, die zweite unter 7 untersuchten Fällen 3 Fälle von Karzinom, die dritte unter 4 untersuchten Fällen 3 Fälle von Karzinom.

Es läßt sich nicht erkennen, daß die höheren Zahlen den Karzinomfällen zukommen, wenn auch die absolut höchste, nur einmal beobachtete Zahl ein Fall von Tuberkulose mit Fettleber aufwies.

Dasselbe ergibt eine andere Art der Betrachtung. Addieren wir sämtliche Zahlen, die für die Karzinomfälle erhalten sind, so ergibt sich, daß 700 g Leber 1,135 g Milchsäure enthalten, also 100 g 162 mg Milchsäure.

Die Summe aller andern Fälle, wenn wir vorläufig die ungewöhnlich hohe Zahl in dem Tuberkulosefall ausschließen, beträgt 1,098 g Milchsäure für 1200 g Leber, also 99,8 mg für 100 g Leber. Auch hier ist es unverkennbar, daß der Leber bei Karzinom eine weit höhere Zahl zukommt. Nehmen wir auch den Tuberkulosefall zur Bildung der Mittelzahl hinzu, so ergeben sich 123,8 mg für 100 g Leber. Der Unterschied ist dann allerdings geringer, aber immer noch deutlich.

Es versteht sich von selbst, daß diese Untersuchung nur einen ersten Versuch darstellt, gewissermaßen den ersten Vorstoß in ein noch unerforschtes Gebiet. Es

wird noch vieler Arbeit bedürfen, um hier zu sicheren Schlüssen zu gelangen, vor allem die Untersuchung von Krebslebern selbst.

Nicht mit Unrecht kann man gegen die Untersuchung von Leichenorganen den Einwand erheben, daß man nicht wissen könne, wie weit die stets vorhandenen Fäulnisvorgänge an den Ergebnissen beteiligt sind. Gewiß stellen sie eine sehr unerwünschte Komplikation dar, aber sie betreffen sämtliche Fälle, und es liegt kein Grund vor, ihnen in speziellen Fällen einen besonders großen Umfang zuzuschreiben. Die Möglichkeit, daß der Zufall an dem Ergebnis beteiligt ist, wird man allerdings trotzdem zugeben müssen, sie wird sich nur durch sehr große Untersuchungsreihen ausschließen lassen.

Auf die sonst noch erhobenen Zahlen — abgesehen vom Milchsäurebefund — soll hier nicht eingegangen werden: sie werden vielleicht später im Zusammenhang mit weiteren Untersuchungen Verwertung finden, als bemerkenswert möchte ich nur die Konstanz des Aschegehaltes in den 10 untersuchten Fällen erwähnen.

XXXII.

Hämatologische Studien

(III. Fortsetzung zu Bd. 143 u. 174.)

Leukozyten und Leukämie.

Von

Prof. E. Neumann, Königsberg.

Seit der Veröffentlichung meiner ersten Abhandlungen über eine myelogene Leukämie (Arch. d. Heilk. von E. W a g n e r , Bd. 11 u. 13, 1870 u. 1872) haben zwar alle späteren Untersucher bestätigt, daß dem Knochenmark eine hervorragende Bedeutung für die Entstehung der leukämischen Blutbeschaffenheit zukommt, doch hat sich unter dem Einfluß der durch E h r l i c h geschaffenen verfeinerten Technik der Blutuntersuchung eine von der meinigen abweichende Auffassung der Beteiligung dieses Organs geltend gemacht. Die Rolle, welche ich ihm zuschrieb, wurde auf ein sogenanntes „myeloides Gewebe“ („myeloides System“, „myeloiden Apparat“, „myeloides Parenchym“) übertragen; das Knochenmark soll zwar den Hauptrepräsentanten desselben darstellen, aber auch andern Organen werden „myeloide“ Bestandteile zugeschrieben, und es wird ferner dem „myeloiden Gewebe“ als g l e i c h w e r t i g für die Pathogenese der Leukämie ein gleichfalls im Körper über verschiedene Organe verbreitetes „lymphatisches Gewebe“ („lymphatisches System“) an die Seite gestellt.

Ähnlich wie V i r c h o w , der nur Milz und Lymphdrüsen (inklusive Lymphfollikel) als Quelle der farblosen Blutzellen kannte, eine lienale und eine lymphatische Form der Leukämie unterschied, wird gegenwärtig gelehrt, daß es einen doppelten Ursprung der Leukämie gebe: aus dem myeloiden System und aus dem lymphati-