

# Die Natur des glomerulären Exsudationsprozesses: Sekretion oder Ultrafiltration; nebst einigen Bemerkungen über direkte chemische Untersuchung mikroskopischer Proben.

Von

Gösta Ekehorn.

(Eingegangen am 3. März 1932.)

I. Wir haben in zwei früheren Aufsätzen<sup>1</sup> die Gründe untersucht, die in dem früheren Schrifttum über die Frage der Natur der glomerulären Absonderung angeführt sind, und wir fanden sie viel zu unsicher, um einen bestimmten Schluß zu erlauben.

In Bd. 284, dieser Zeitschrift, S. 363—383 betrachteten wir ferner gewisse Ergebnisse, die mittels der modernen Glomerulo-Anstichmethode gewonnen worden waren und ergaben, daß das glomeruläre Exsudat tatsächlich in den Mengen gebildet werden muß, die von der sog. Filtrations-Resorptionstheorie gefordert werden, und wir werden im nächsten Aufsatz weitere Belege für die Richtigkeit dieser Auffassung über das Ausmaß der glomerulären Exsudation geben.

Es ist indes offenbar, daß Beobachtungen über die Menge, in welcher Glomerulusflüssigkeit gebildet wird, an und für sich weder etwas über ihre Zusammensetzung noch darüber sagen, auf welche Art und Weise sie zustande kommt, ob sie ein Ultrafiltrationsprodukt aus dem Plasma ist oder nicht. Im ersteren Falle muß sie in bezug auf alle ultrafiltrierbaren Bestandteile des Plasmas diesem (energetisch) äquimolekular sein.

II. Wir wollen uns nun zuerst in den Abschnitten II—X damit befassen, in welchem Maße die Glomerulo-Punktionsmethode diese Fragen bisher in etwas entscheidenderer Weise beleuchten konnte oder in Zukunft wird beleuchten können. *Man muß leider sagen, so wichtige Aufschlüsse diese Methode auch bezüglich der Mengen, in welchen die Glomerulusflüssigkeit gebildet wird, geliefert hat, bei der Behandlung der hier zu erörternden Fragen läßt sie uns gänzlich im Stich.*

Die Aufschlüsse, die die Methode über die Zusammensetzung der Glomerulusflüssigkeit gibt, stimmen allerdings vollständig zu der Ansicht, daß sie ein Ultrafiltrat ist, sie sind aber andererseits so bruchstückartig,

<sup>1</sup> Ekehorn: Virchows Arch. 283, 664; 284, 26.

daß sie uns keineswegs erlauben die Frage zu entscheiden. Ferner fehlt jede Voraussetzung dafür, daß wir unser Wissen in dieser Beziehung in Zukunft durch unmittelbar chemische Analyse herausgeholter Glomerulusflüssigkeit nennenswert werden erweitern können.

*III. Bisher konnten mittels der Anstichmethode in bezug auf die Zusammensetzung der Glomerulusflüssigkeit folgende Ergebnisse erreicht werden:*

Wir haben schon darauf hingewiesen<sup>1</sup>, daß man mittels dieses Verfahrens in entscheidender Weise die histochemischen Beobachtungen bestätigen konnte, die mit großer Wahrscheinlichkeit, wenn auch nicht mit vollständiger Sicherheit gezeigt haben, daß Farbstoffe und Eisensalze in allen Fällen, wo sie mit dem Harn ausgeschieden werden, in der Glomerulusflüssigkeit vorkommen; jeder solcher in den Harn übergehender Stoff, auf den man durch Punktion gewonnene Glomerulusflüssigkeit untersuchen konnte, war in dieser nachweisbar.

Von normalen Bestandteilen des Harns kommen Harnstoff und Chlor immer in der Glomerulusflüssigkeit vor (Principles, S. 519—520); ferner weiß man, daß die Glomerulusflüssigkeit sowohl positive als auch negative Ionen enthält, und zwar in einem Verhältnis, das viel weniger von dem des Plasmas abweicht, als es im normalen Harn der Fall ist; vielleicht haben Plasma und Glomerulusflüssigkeit sogar dieselbe Wasserstoffionenkonzentration (Principles, l. c.).

Was die pathologisch-biologischen Harnbestandteile betrifft, so ist Eiweiß in der normalen Glomerulusflüssigkeit nicht enthalten, jedenfalls nicht in einer mit gewöhnlichen Eiweißreagenzien entdeckbaren Menge. Dagegen enthält sie immer Eiweiß bei Albuminurie (Principles, S. 357—365). Zucker ist in der Glomerulusflüssigkeit sehr deutlich nachzuweisen, solange das Plasma des Frosches Zucker enthält (d. h. bei Sommerfröschen). Bei Sommerfröschen ist dieser Zucker ferner ein beständiger Bestandteil der Glomerulusflüssigkeit, ob nun der endgültige Blasen-harn Zucker enthält oder nicht, ein Umstand, der bedeutende Beachtung verlangt insofern, als er einen unbedingten Beweis dafür bildet, daß wenigstens die Kanälchen des Frosches Zucker aus der Glomerulusflüssigkeit aufnehmen, daß sie Zucker resorbieren. Es ist auch klar, daß sie Chlor resorbieren. Öfter als der Harn anderer Tiere ist nämlich derjenige des Frosches frei von Chlor oder enthält nur Spuren davon; im Gegensatz zum Harn von Säugetieren enthält der des Frosches, auch wenn er am chlorreichsten ist, immer weniger Chlor als das Plasma. Die Glomerulusflüssigkeit des Frosches enthält indes *immer* Chlor in bedeutenden Mengen, und schon die qualitativen Chlorproben zeigen, daß diese Mengen ungefähr ebenso groß sind wie die im Plasma vorkommenden, denn aus der Glomerulusflüssigkeit erhält man, soweit es sich nach qualitativen Proben beurteilen läßt, einen Chlorniederschlag von derselben Stärke wie aus dem eiweißfreien Plasma.

Die obigen Ergebnisse sind als vollständig sicher zu betrachten; sie wurden beständig erhalten und von verschiedenen Untersuchern bestätigt.

IV. Außer den über die Wasserstoffionenkonzentration der Glomerulusflüssigkeit angeführten Beobachtungen, deren Technik viel zu ungenau ist, um sie als Mengenuntersuchungen betrachten zu können (Principles, S. 520), hat man auch versucht, die Glomerulusflüssigkeit in mehreren Beziehungen wirklich *mengenmäßig zu analysieren*. So

<sup>1</sup> Ekehorn: Virchows Arch. 284, 29.

versuchte man, ihren Chlorgehalt und ihre Gesamtsalzkonzentration — beides im Vergleich zum Plasma — zu bestimmen.

Die ersten Serien solcher Untersuchungen wurden von *Wearn* und *Richards* im Jahre 1925 ausgeführt (Konzentration des Chlors) und von *White* im Jahre 1928 (Gesamtsalzgehalt). Jene ergaben, daß die Chlorkonzentrationen in Glomerulusflüssigkeit und Plasma sich in 9 von 10 verglichenen Fällen zueinander verhielten wie  $\frac{115-128}{100}$ ; in 1 Falle waren sie gleich. Einen Unterschied von ungefähr derselben Größe fand *White* zwischen den beiden Flüssigkeiten betreffs der gesamten Salzkonzentration.

Die für diese Bestimmungen angewendeten Methoden wurden auf den S. 326—338 (Principles) einer kritischen Prüfung unterzogen und so voll von Fehlerquellen befunden, daß die erhaltenen Ergebnisse für jede nähere sachliche Erörterung überhaupt nicht in Betracht kommen; der einzige Schluß, der erlaubt sein kann, ist der, daß der Gesamtsalzgehalt und die Chlorkonzentration in der Glomerulusflüssigkeit von etwa derselben Größenordnung sind wie im Plasma, es ist aber unmöglich auf Grund dieser Ergebnisse bestimmt zu sagen, ob der Gesamtsalzgehalt und der Chlorgehalt in der Glomerulusflüssigkeit z. B.  $\frac{2}{3}$  des entsprechenden Wertes im Plasma sind, oder ebenso groß, oder  $\frac{4}{3}$  des Plasmawertes.

Diese früheren Ergebnisse sind in den letzten Jahren in *Richards* Laboratorium einer neuerlichen Prüfung<sup>1</sup> unterzogen worden mit dem Resultat, daß *in der Glomerulusflüssigkeit im allgemeinen aber nicht regelmäßig derselbe Chlorgehalt und dieselbe Gesamtsalzkonzentration gefunden wurde wie im Plasma*. Es scheint mir jedoch, als ob sämtliche die Einwendungen, die ich gegen die Zuverlässigkeit der früheren Versuchsreihen erhob, auch für die letzteren gelten; die Bestimmungen des Chlorgehaltes wurden auch in dieser Reihe unverändert mit derselben nephelometrischen Methode ausgeführt, die vorher angewendet worden war, einer Methode, die besonders für mikro-analytische Arbeit dieser Art äußerst unsicher ist (Principles, S. 326—333).

Die neuen Bestimmungen der *Gesamtsalzmenge* wurden einerseits nach *Whites* altem Verfahren ausgeführt, die sich darauf gründet, in welchem Grade verschieden konzentrierte Lösungen Wasserdampf aufnehmen und abgeben; diese Methode ist äußerst unsicher, vor allem, weil nicht zu vermeiden ist, daß die geringe Glomerulus-Flüssigkeitsprobe für einige Zeit mit der äußeren Luft in Berührung kommt, wenn man sie aus der Anstichpipette in die Analysencapillaren bringt usw. Weiter ist die Methode wenig empfindlich und gestattet kein Ablesen von kleineren Konzentrationsunterschieden als etwa 10% (z. B. 0,60—0,65%); d. h. gerade solche kleinere Unterschiede, deren Vorhandensein oder Nichtvorhandensein entschieden werden soll, sind dem Versuchsfehler fast gleich (Pr, S. 333—338). Ferner wurde die Gesamtsalzkonzentration mittels Messung des elektrischen Leitungswiderstandes der Glomerulusflüssigkeit untersucht. Einerseits sind gegen dieses Verfahren dieselben Einwände zu erheben wie gegen die obige, und andererseits kommen andere Bedenken hinzu, auf die ich hier nicht näher eingehen will; es sei nur angeführt, daß sie in Zusammenhang stehen mit dem äußerst geringen Volumen der Glomerulus-

<sup>1</sup> *Richards* u. Mitarbeiter: Fünf Aufsätze in J. of biol. Chem. 87, 463—540.

Flüssigkeitsprobe, mit der Schwierigkeit, Analysengefäße von entsprechend geringstem Ausmaß mit vollständig geeigneten Elektroden zufriedenstellend herzustellen. Das schlimmste ist aber, daß die minimale Probe der analysierten Flüssigkeit während der elektrischen Untersuchung sich in einem offenen Gefäß befand, d. h. *in ausgiebiger Berührung mit der Luft* (J. of biol. Chem., S. 525). Es genügt ein Hinweis auf S. 118—120 (Principles) um klarzulegen, wie ungeheuer schnell Verdunstung aus solchen kleinen Flüssigkeitsmengen verläuft, selbst wenn die Berührung mit der Luft auf ein Mindestmaß beschränkt ist. *Diese gewaltige Verdunstung muß bei den meisten Operationen vollständig ausgeschaltet, sie muß bei den übrigen auf ein Kleinstdmaß gebracht und ihr Grad muß genau gemessen werden, sonst verliert bei so kleinen Flüssigkeitsmengen eine Mengenuntersuchung jeden Wert*; dies bezieht sich nicht nur auf elektrische, sondern auf Mengenuntersuchungen jeglicher Art. Es ist von Interesse, daß auch die Verfasser selbst die Bedeutung nichtkontrollierter Verdunstung als Fehlerquelle erwägen: „Danger of evaporation from glomerular fluid after collection may have been underestimated“ (J. of biol. Chem., S. 476), und dieser unkontrollierten Fehlerquelle werden die zuweilen sehr abweichenden Ergebnisse einer nicht unbeträchtlichen Zahl der Versuche zugeschrieben.

Ich sehe mich also leider gezwungen, auch *bezüglich der Beweiskraft dieser letzteren, sonst für die Filtrations-Resorptionstheorie mehr günstigen Untersuchungsreihen eine sehr vorsichtige Haltung einzunehmen.*

Diese Zurückhaltung scheint mir um so mehr am Platze zu sein, als die Verfasser selbst für die Verschiedenheit der späteren Ergebnisse von den früher gewonnenen keine befriedigende Erklärung geben.

Der Unterschied zwischen den Ergebnissen der verschiedenen Reihen wird nämlich aus einer Änderung der Technik für die Aufsammlung der Glomerulusflüssigkeit hergeleitet, *welche Änderung in dieser Beziehung vollständig belanglos ist*, und der auch *Richards* selbst früher einmal aus stichhaltigen Gründen eine solche Bedeutung vollkommen abgesprochen hat. (J. of biol. Chem. 66, 247.)

Bei den späteren Anstichreihen hat man nämlich vor der Punktion des glomerulären Kapselraumes das dazu gehörende Kanälchen zugeklemmt, was in den ersteren Reihen von Glomerulo-Punktionsversuchen unterlassen worden war. Diese frühere Unterlassung wird jetzt dafür verantwortlich gemacht, daß man früher in der Glomerulusflüssigkeit einen höheren Chlorgehalt und einen höheren Gesamtsalzgehalt fand als im Plasma. Man nimmt an, daß Harn aus den Kanälchen in die angestochenen Kapselräume zurückgeflossen sein soll, ein rückläufiger Strom, der offenbar in den späteren Versuchsreihen, bei welchen die Kanälchen zugeklemmt wurden, ausgeschlossen war. Die Vorbringung dieser „Erklärung“ des Unterschiedes zwischen den Ergebnissen der früheren und der späteren Versuchsreihen macht doch den Verfassern augensichtlich sehr große Schwierigkeiten, da man in den früheren Arbeiten mit allem Recht betont hatte: es sei vollständig ausgeschlossen, daß Zurückströmen Kanälchenharns zu etwas anderem führen könne als zu einer Senkung des Chlor- und Salzgehaltes der Glomerulusflüssigkeit.

Daß man in der Glomerulusflüssigkeit einen mit dem des Plasmas gleichen Gesamtsalz- und Chlorgehalt fand, wenn ein solches Zurückströmen ausgeschlossen war, aber einen höheren Gehalt, wenn dieses möglich war, bedeutet nur, daß die mikro-analytischen Mengenmethoden unzuverlässig waren; die Verschiedenheit der Ergebnisse hat nichts mit dem Zurückfließen Kanälchen- oder Harnleiterharns zu tun.

*Wearn* und *Richards*, sowie *Wearn* und *Schmidt* haben ja selbst gezeigt, daß Chlor und Zucker aus der ursprünglichen Glomerulusflüssigkeit während ihres Durchlaufens durch die Kanälchen mehr oder wenig vollständig verschwinden (vgl. oben, Abschnitt III); auch auf S. 519 meiner *Principles* sei verwiesen, wo erwähnt wurde, daß es gelungen ist, durch Anstich der Glomeruli und Kanälchen, sowie

durch Beobachtung der in den Kanälchen der Amphibienniere vor sich gehenden Auslaugung von roten Blutkörperchen, die in den Kapselraum eingespritzt wurden, das oben erwähnte Verhalten weiter zu bestätigen. Da die Kanälchen also Chlor und Zucker sowie Salze im allgemeinen aufsaugen, so daß der Harn schon in den proximalen gewundenen Kanälchen *stark hypoton* wird, ist es offenbar, daß ein eventuelles Zurückströmen dieses hypotonen, zuckerfreien und chlorarmen Harns unmöglich die Ursache davon sein kann, daß der Glomerulusharn in Versuchsreihen, wo eine solche rückläufige Strömung möglich war, reicher an Chlor und Salzen wurde als in Reihen, wo eine solche ausgeschlossen war.

*V. Aus vielen Gründen ist es unbedingt erforderlich, daß man volumetrische Methoden genau befolgt, wenn überhaupt irgendein Grad von experimenteller Sicherheit bei direkten Mengenuntersuchungen der durch Glomeruluspunktion erhältlichen sehr geringen Flüssigkeitsproben erreichbar sein soll.*

Man erhält nämlich nur ausnahmsweise so viel wie 3—4 mg Glomerulusflüssigkeit beim Anstechen, namentlich dann, wenn man unter den besonders strengen Vorsichtsmaßregeln arbeitet, die durch die Absicht bedingt sind, die Flüssigkeit später auf ihre Menge zu untersuchen (Principles, S. 317—318, 321—323); oft genug muß man sich damit begnügen, 1—2 mg aufzusammeln (vgl. unten S. 452).

Jegliche weitere Behandlung dieser äußerst geringen Flüssigkeitsmengen bietet nun natürlich so große technische Schwierigkeiten, besonders bei quantitativer Analyse, daß deren Ergebnisse nur dann von Wert sind, wenn sie unter Beobachtung der strengsten Genauigkeit ausgeführt wurden, und es ist eine *Mindestforderung*, daß der Grad dieser Genauigkeit wenigstens nicht geringer sein darf als derjenige, mit welchem wir bei Analyse der Harnproben von gewöhnlichem Volumen vorgehen.

Nun wird es niemandem einfallen, eine gewöhnliche Mengenbestimmung eines Stoffes im Blasenharn auszuführen, wenn nicht die *erforderlichen Vorproben* durchgeführt werden konnten; es wird beispielsweise niemand auf Chlor titrieren, ohne sich davon überzeugt zu haben, daß der betreffende Harn eiweißfrei ist. Ich brauche nicht auseinanderzusetzen wie äußerst unsicher alle unsere gewöhnlichen Harnanalysen wären ohne die notwendigen Vorproben, oder wenn diese an anderen Harnproben vorgenommen werden müßten als an den titrierten.

Die bisher kritisierten mikro-analytischen Methoden gestatten aber eine Mengen-Analyse nur dann, wenn die *ganze* aufgesammelte Probe dazu verwendet wird, mit anderen Worten, es war nicht möglich, die Probe zur Anstellung von notwendigen Vorproben, zur Verdoppelung der späteren Titrierungen usw. in Portionen aufzuteilen. Diese Unterlassung ist äußerst leicht erklärlich im Hinblick auf die Schwierigkeit, diese kleinen Flüssigkeitsmengen auf einfache Weise aus einem Gefäß ins andere zu bringen, ohne das meiste von der kostbaren Flüssigkeit durch im entleerten Gefäß zurückbleibende Tropfen zu verlieren. Es ist natürlich äußerst schwer, solche Maßnahmen mit höchst geringen Flüssigkeitsmengen in den so feinen Capillargefäßen, in welchen sie aufbewahrt werden müssen, zu beherrschen und auszuführen; alle solchen Operationen sind außerdem äußerst zeitraubend und sie müssen ferner so ausgeführt werden, daß die *Glomerulusflüssigkeit nicht einen Augenblick der Luft ausgesetzt wird*, da sich ihre Konzentration sonst in sehr kurzer Zeit merklich verändern kann usw.

Die *erste Voraussetzung für die Anstellung quantitativer Analysen an*

Proben dieser Größe ist natürlich die Ausarbeitung einer Methode und einer Apparatur, die es uns gestatten, *die aufgesammelten kleinen Flüssigkeitsmengen* zum oben angedeuteten Zweck *in beliebige Kleinportionen aufzuteilen, ohne dabei Verlust oder Verunreinigung oder Konzentrationsveränderungen der Flüssigkeit zu riskieren*. Man muß ferner *die derart abgeteilten kleinen Flüssigkeitsmengen messen können*; hieraus ergibt sich die Notwendigkeit von strikt volumetrischen Methoden bei quantitativen mikroskopischen Analysen. All dies ist durch die Methode, die ich in meinen Principles näher angegeben habe, möglich. Sie gestattet die genaue Messung jedes beliebigen Volumenunterschiedes zwischen 1,3 und 0,0004 mg, wobei Verunreinigungen der Probe oder Konzentrationsveränderungen in ihr vollständig ausgeschlossen sind. Auf diese Weise können einige wenige Milligramm Glomerulusflüssigkeit 2—4 Vorproben und Titrierungen in duplo unterzogen werden (Principles, S. 319—325).

Die Notwendigkeit streng volumetrischer Methoden geht auch aus mancherlei anderen Gründen hervor.

Der wichtigste von diesen ist, daß *der Grad der Verdunstung bei einem Flüssigkeitsvolumen von ungefähr 1 cmm außerordentlich groß ist*, weit größer als von gewöhnlicheren Flüssigkeitsvolumina unter sonst gleichen Verhältnissen. Vom theoretischen Gesichtspunkte ist dies höchst natürlich, und es wird durch die reichlichste praktische Erfahrung bestätigt (Principles, S. 118—120 und 333—334).

Nun ist es nicht möglich, nach irgendeiner Titrierungsmethode die ganze Titrierung auszuführen, ohne daß die Luft für längere oder kürzere Zeit mit einer oder mehreren von den angewendeten Flüssigkeiten in Berührung kommt. Um zu vermeiden, daß sich beträchtliche und unbekannte Fehler in die erhaltenen Ergebnisse einzuschleichen vermögen, *muß die dabei vor sich gehende Verdunstung natürlich überprüft und gemessen werden können*. Nur eine sehr verfeinerte und höchst exakte volumetrische Methode ermöglicht dies, und nur eine solche Methode vermag zu zeigen, welchen Grad die Verdunstung tatsächlich bei diesen geringsten Flüssigkeitsmengen leicht erreicht, wenn ihr nicht auf das genaueste entgegengearbeitet wird.

Da die von mir angegebene Methode es gestattet, in beträchtlichem Grade unter Paraffin zu arbeiten, ist es schließlich möglich, *die Möglichkeit einer Abdunstung* mit den daraus sich ergebenden Konzentrationsveränderungen für die Glomerulus-Flüssigkeitsprobe und für alle bei der Titrierung angewendeten Flüssigkeiten *vollständig auszuschließen*, eine einzige ausgenommen, nämlich die Reagensflüssigkeit, mit welcher die Titrierung vollendet wird (vgl. Principles, über den Zusatz von Silbernitrat bei Chlortitrierung und von Alkali bei Säure-Alkalititrierung). Die Verdunstung und Konzentrationsveränderung, die beim Zusatz dieses Reagens stattfinden, können allerdings beträchtlich begrenzt werden, da sie aber nicht ganz auszuschließen sind, müssen sie, wie gesagt, gemessen werden können.

*Nur das volumetrische Verfahren gestattet es also, die auf einer möglichen Abdunstung und Konzentrationsveränderung beruhende Fehlerquelle zu beherrschen*. Es versteht sich von selbst, daß sie von noch ungeheuer größerer Bedeutung bei noch kleineren Proben wird (vgl. unten S. 462), die offenbar bei ihrer Auffammlung, Aufbewahrung und Untersuchung unkontrollierter Berührung mit der Luft oder irgend einem anderen Medium, so daß Stoffe mit der Probe ausgetauscht werden konnten, nicht während des allerkleinsten Teiles einer Sekunde ausgesetzt werden dürfen.

VI. *Die volumetrische Methode der quantitativen mikroskopischen Chloranalyse hat sich*, soweit ich es bisher prüfen konnte, als *sehr genau erwiesen*. Bei Bestimmung des Chlorgehaltes betrug der Durchschnittsfehler nur 0,000028—0,000032 mg Kochsalz, d. h. er hielt sich bei 1,86% der ganzen in den Vergleichsproben enthaltenen Kochsalzmenge, welche letztere zwischen 0,0015 und 0,00175 mg Kochsalz schwankte (Principles, S. 170—174).

Diese Ziffern sind die Durchschnittszahl von einer ganzen Reihe aufeinander folgender Bestimmungen, nicht etwa nur von einer Anzahl ausgewählter besonders gelungener Versuche. Die größten Schwankungen von dieser Durchschnittszahl sind + 1,96% und — 2,16% der gesamten Kochsalzmenge in den Vergleichsversuchen.

Titrierungen von anderem Typus als Chlortitrierungen, z. B. Säure-Alkalititrierungen gaben bei den Vergleichsversuchen sogar beträchtlich geringere Durchschnittsfehler und kleinere Abweichungen vom Durchschnittsfehler in den einzelnen Versuchen (Principles, S. 137—139); daß das Ergebnis dieser Titrierungen noch besser ist, beruht darauf, daß das Titrat hier klar bleibt, während bei den Chlortitrierungen ein Niederschlag entsteht, der recht verwickelte Maßnahmen erforderlich macht, um den Endpunkt genau bestimmen zu können.

Dank der Möglichkeit, die wenigen, bei Anstich erhaltenen Milligramme Glomerulusflüssigkeit in kleinere Portionen aufteilen zu können, konnte ich die meisten von meinen Chlortitrierungen an der besagten Flüssigkeit doppelt ausführen (Principles, S. 319—324); jede titrierte Glomerulusflüssigkeit wurde auch wiederholten *Hellerschen* Proben unterzogen und dabei eiweißfrei befunden, eine Vorprobe, ohne die ja jede Chlorbestimmung sinnlos wäre, gleichgültig, nach welchem Verfahren sie ausgeführt wird, deren stetige Unterlassung ein schwerwiegender Einwand gegen frühere Chlorbestimmungen ist. Die Methode dieser *Hellerschen* Mikroproben ist auf S. 230—232 beschrieben; sie sind, wenn sie für Flüssigkeitsvolumina von  $\frac{1}{2}$ —1 mm<sup>3</sup> angewendet werden, für den Nachweis von Eiweißkonzentrationen von 25—40 Milliprozent oder darüber vollständig zuverlässig. Jede titrierte Glomerulusflüssigkeit wurde natürlich auch in anderen Beziehungen auf ihre Reinheit geprüft (Principles, S. 226), und zur Titrierung wurden nur Flüssigkeiten angewendet, die in dieser und verschiedenen anderen Beziehungen die strengsten Ansprüche erfüllten (Principles, S. 317—324).

Die Ergebnisse doppelt ausgeführter Titrierungen derselben Glomerulusflüssigkeit hielten sich immer deutlich innerhalb der Grenzen der sehr unbedeutenden, in den Vergleichsversuchen festgestellten Grenzen der Versuchsfehler; *als Endresultat ergab sich, daß in sämtlichen Titrierungen der Chlorgehalt der lege artis aufgesammelten Glomerulusflüssigkeit in den Grenzen des unbedeutenden Versuchsfehlers gleich war dem des Plasmas.*

Der Einfachheit halber wurde der Chlorgehalt des Plasmas in Prozenten der Plasmamenge ausgedrückt, nicht, wie es richtiger gewesen wäre, in Prozenten der Wassermenge des Plasmas (Principles, S. 319); der Unterschied zwischen diesen beiden Ausdrucksweisen ist beim Frosch, bei dem das Eiweiß nur 2,4–4,3% des Plasmas ausmacht, nur unbedeutend. In meinen Versuchen war das Blut außerdem etwas hydrämisch, und der Eiweißgehalt also noch etwas geringer. Ein in Prozenten vom ganzen Plasma ausgedrückter Kochsalzgehalt von z. B. 0,500% ist in Prozenten des Plasmawassers ausgedrückt gleich einem Kochsalzgehalt von 0,510%, wenn das Plasma 2% Eiweiß enthält; dieser Unterschied ist ungefähr gleich groß wie der Durchschnittsfehler der Chlortitrierungen (1,86% der ganzen Kochsalzkonzentration) und wurde deshalb überhaupt außer Betracht gelassen.

*Sollen wir dann sagen, daß meine diesbezüglich ausgeführten Titrierungen wirklich sicherstellen, daß Plasma und Glomerulusflüssigkeit gleiche Chlorkonzentrationen haben? Ich neige in dieser Beziehung zu einer sehr vorsichtigen Haltung.*

Es ist einerseits wahr, daß sämtliche Vergleichsversuche in der denkbar günstigsten Weise ausgefallen sind, daß der Versuchsfehler außerordentlich klein war, und daß sowohl sein Vorkommen als auch seine übrigens sehr unbedeutenden Schwankungen leicht befriedigend zu erklären sind. Es ist ferner wahr, daß die volumetrische Methode das Auftreten und jede Bedeutung der bisher bei ähnlichen Bestimmungen übersehenen Fehlerquellen beseitigt und daß das Verfahren außerdem auch von manchen anderen den früheren Methoden anhaftenden Unsicherheitsmomenten vollständig frei ist.

Gegen diese Vorteile ist aber andererseits dem volumetrischen Verfahren die selten verwickelte Technik als Nachteil anzuschreiben; es erweist sich tatsächlich als äußerst schwer, an Flüssigkeitsproben von der Größe etwa eines Milligramms in zufriedenstellender Weise zu titrieren und die Genauigkeit, die wir bei Mengenuntersuchungen an Proben von gewöhnlicheren Volumen unbedingt fordern, auf die mikroskopischen Verhältnisse zu übertragen; dies ist so schwer — und nur eine genau volumetrische Arbeit vermag zu zeigen, wie schwer es wirklich ist — daß 170 Seiten in meinen Principles notwendig sind, um die angewendete Apparatur und Technik zu beschreiben; und dies, trotzdem die Darstellung in großen Teilen so zusammengedrängt ist, daß sie fast unverständlich sein dürfte außer für jemanden, der selbst einen ähnlichen Apparat aufbaut und sich an diesem jeden Handgriff beleuchtet, der zu den unzähligen Operationen der Titrierung gehört.

Nun wird keine, nicht einmal die einfachste, gewöhnliche Titrierungsmethode und -apparatur als sichergestellt betrachtet, bevor der Erfinder selbst sie hunderte Male unter höchst verschiedenen Bedingungen geprüft hat, und bevor sie dann von zahlreichen anderen Forschern nachgeprüft und verändert worden ist. Um eine Methode wie die meinige bestätigen zu können, bedarf es offenbar tausender Überprüfungen, und ich kann insgesamt nur etwa 30 vorlegen, trotzdem ich ein ganzes Jahr an der Ausarbeitung und Erprobung des Verfahrens arbeitete.



Meine Chlortitrierungen an Glomerulusflüssigkeit können daher in einem der schweren Ausführbarkeit der Titrierungen entsprechenden Ausmaß nicht als gesichert betrachtet werden.

VII. Ich wiederhole hier, was ich schon in meinen Principles mit größtmöglichem Nachdruck hervorgehoben habe (S. 120, 334—347), nämlich, daß meine Titrierungen, als *Beweis* für Chlorkonzentrationen in der Glomerulusflüssigkeit betrachtet, vielleicht nur ein reines Kuriositätsinteresse haben. *Ist ihre positive Bedeutung also nicht unzweifelhaft, so ist ihre negative Bedeutung dagegen sehr groß.*

Zusammen mit früher versuchten Methoden zeigen nämlich meine Titrierungen unbestreitbar, wie schwer es ist, die Konzentration des Chlors in Flüssigkeitsmengen von etwa einem Milligramm sicher und genau zu bestimmen; soll man genau arbeiten, so ist die Methodik viel zu verwickelt, um in ausreichendem Grade sicher gestellt werden zu können; wählt man technisch einfachere Methoden, so läßt man die schwersten Fehlerquellen in großer Zahl ohne Vergleich, wodurch sich die Zuverlässigkeit der in Rede stehenden Methoden hauptsächlich darauf gründet, daß es dieser ungeprüften Fehlerquellen so viele gibt, daß sie einander in großem Ausmaße aufheben dürften!

Verhält es sich so bei der *Chlorbestimmung*, wie sollen sich dann erst *andere unmittelbare Mengenanalysen* der Glomerulusflüssigkeit in bezug auf ihre Ausführbarkeit und die Zuverlässigkeit der Ergebnisse gestalten?

Es ist nämlich technisch einfach, Chlor in einem Flüssigkeitsvolumen von gewöhnlicher Größe zu titrieren; eine bedeutend verwickeltere Aufgabe ist es, schon bei gewöhnlichen Titrierungen, die Konzentrationen von Harnstoff, Harnsäure, Zucker, Phosphaten usw. zu bestimmen. Es dürfte vollständig ausgeschlossen sein, mit einem halbwegs annehmbaren Grade von Sicherheit die letzteren, viel verwickelteren Mengenbestimmungen auf mikroskopische Verhältnisse übertragen zu können, wenn sich schon die verhältnismäßig so einfachen Chlortitrierungen nicht so übertragen lassen, ohne daß man bald an der Scylla einer Menge von unüberprüfbaren Fehlerquellen, bald an der Charybdis der allzu verwickelten Technik strandet.

Hierzu kommt ein anderer Umstand. Chlor ist unter den ultrafiltrablen Bestandteilen des Plasmas den in der größten Menge vorkommenden und wir haben keinen Grund, diese Stoffe in nennenswert höhere Konzentrationen in der Glomerulusflüssigkeit zu erwarten (s. nachstehend S. 452). Wie sollen wir jemals zuverlässige Titrierungen auf eine von diesen anderen Stoffen ausführen können, wenn wir dies kaum oder vielleicht überhaupt nicht in bezug auf die verhältnismäßig großen Chlormengen tun können?

*Aus allen diesen Gründen müssen wir den Gedanken, an so kleinen Flüssigkeitsmengen wie sie durch Anstechen eines Glomerulus erhältlich*

sind, direkte Mengenanalysen ihrer Zusammensetzung auszuführen, als eine Chimäre ablehnen; es ist vielleicht möglich, Chlor zufriedenstellend zu titrieren, aber nicht einmal dies ist bisher sicher. Nur gewisse qualitative Proben sind hier möglich, und auch diese nur in bezug auf einige wenige Stoffe.

VIII. Aus dem folgenden wird auch hervorgehen, wie unmöglich es ist, daß wir auch nur in einer fernen Zukunft durch direkte chemische Analyse einer durch Anstechen gewonnenen Glomerulusflüssigkeit deren Zusammensetzung ermitteln werden, außer in bezug auf einige wenige einfache Verhältnisse, die in keiner Weise ausreichen, um die Frage zu entscheiden, ob die Glomerulusflüssigkeit ein Ultrafiltrat ist oder nicht.

Ich teile hier einige normale Werte über die Konzentration verschiedener Stoffe im Plasma von Amphibien mit, der einzigen Art, deren Gomeruli für einen Anstich genügend oberflächlich liegen.

NaCl . . . .	500 Milliprozent	CaCO <sub>3</sub> . . . .	4 Milliprozent
Harnstoff . .	40 „	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> . .	8 „
Kreatinin . .	3 „	Glykose . . . .	50 „
MgSO <sub>4</sub> . . . .	5 „	Harnsäure . . .	1 „

Ist die Filtrations-Resorptionstheorie richtig, so haben alle ultrafiltrablen Stoffe in der Glomerulusflüssigkeit dieselben oder fast dieselben Konzentrationen wie im Plasma; ist die Sekretionstheorie richtig, so sind jene Konzentrationen niedriger als diese (nach gewissen Formulierungen der Sekretionstheorie vielleicht gleich groß wie diese). *In keinem Falle kann man also erwarten, daß die Konzentrationen in der Glomerulusflüssigkeit nennenswert größer sind als die im Plasma.*

Qualitative und quantitative Proben an Glomerulusflüssigkeit müssen indes an Mengen von ungefähr 1 mg Flüssigkeit ausgeführt werden; größere Mengen, z. B. 4—5 mg sind nur selten aus einem angestochenen Glomerulus herauszuholen. Gegen einen Versuch, die Flüssigkeitsmenge dadurch zu vergrößern, daß man mehrere Punktate aus verschiedenen Glomeruli sammelt, machen sich aber *sehr starke Bedenken* geltend<sup>1</sup>. Zur Ausführung der doppelten Hauptprobe, und vor allem zur Ausführung der Vorproben, ohne die jede Mengen- und die meisten qualitativen Proben sinnlos sind, muß also die geringe Menge von allerhöchstens 4—5 mg in kleinere Portionen geteilt werden.

Soll also jede einzelne Probe ungefähr an 1 mg Flüssigkeit ausgeführt werden — ich habe dabei im allgemeinen mit  $\frac{2}{3}$ — $\frac{3}{4}$  mg Flüssigkeit arbeiten müssen — so bestehen die absoluten Mengen der geprüften Stoffe offenbar aus so vielen hunderttausendsteln Milligramm, wie es ihre Plasmakonzentration in Milliprozent angibt. Dies besagt, daß sämtliche Harnsubstanzen, außer Kochsalz, in den analysierten Glomerulus-Flüssigkeitsproben in absoluten Mengen vorhanden sind, die 0,00050 mg nicht übersteigen und unter diesen letzteren Stoffen finden sich alle, außer Glykose und Harnstoff, nur in Mengen von weniger als 0,00010 mg, oft in

<sup>1</sup> Um den Chlorgehalt in Plasma und Glomerulusflüssigkeit zu vergleichen, muß man unbedingt die Blutprobe unmittelbar nach der Glomerulus-Flüssigkeitsprobe nehmen, sonst wird der Vergleich unsicher (Principles, S. 320). Hieraus ergibt sich die Unmöglichkeit, mehrere Proben von Glomerulusflüssigkeit, größerer Volumen wegen, vereint zu analysieren. Dies ist um so unmöglicher, weil Glomerulusflüssigkeit, für quantitative Analyse geeignet, nach gelungenem Herausheben erst nach Stunden wieder gewonnen werden kann. Für solche Analyse muß sie nämlich unter so strengen und schwer zu verwirklichenden Kautelen herausgeholt werden, daß die Proben von der großen Mehrzahl versuchter Anstiche zu verwerfen sind (Principles, S. 317 und 321—324).

bedeutend geringerer Menge. *Wir wollen hiermit die kleinsten absoluten Mengen von verschiedenen Stoffen vergleichen, die sicher mikroskopisch zu beobachten sind.*

Was die *Eiweißkörper* betrifft, so beträgt die kleinste, sicher beobachtbare Menge 25–40 Hunderttausendstel von 1 bzw.  $\frac{1}{2}$  mg (Principles, S. 230–232), durchschnittlich also 0,00026 mg; befinden sich kleinere Eiweißmengen in der Flüssigkeitsprobe, so ist Mikro-Heller nicht mehr immer oder sicher positiv.

Bei Chlor beträgt der durchschnittliche Fehler in meinen Titrierungen (Principles, S. 170) 0,000028–0,000032 mg NaCl, und diese Werte sind folglich als der durchschnittliche Grenzwert der kleinsten Kochsalzmenge zu betrachten, deren Vorhandensein oder Fehlen sicher festgestellt werden kann, die kleinste beobachtbare Menge Chlor würde also durchschnittlich in runder Zahl 0,00003 mg betragen.

Viele von den Salzen der Glomerulusflüssigkeit dürften bezüglich der kleinsten beobachtbaren Menge zwischen Chlor und Eiweiß liegen, zwischen 0,00003 und 0,00026 mg. Dies scheint bei den Phosphaten der Fall zu sein (Principles, S. 519); vielleicht müssen einige von diesen Salzen sogar in größerer Menge als 0,00026 mg vorliegen, um nachweisbar zu sein; wir können aber mit ziemlich großer Sicherheit ausschließen, daß irgendein Stoff in geringeren Mengen nachweisbar ist als Chlor. Wir brauchen uns nämlich nur daran zu erinnern, daß das Vorhandensein und Fehlen so kleiner Chlormengen nicht unmittelbar, sondern nur mittels eines Indicators (Chromsilber) nachweisbar ist, und daß trotz dessen beträchtlicher Färbstärke mannigfaltige Kunstgriffe erforderlich sind, um die geringsten, 0,00003 mg Chlor entsprechenden Farbmengen erkennbar zu machen (Principles, S. 156–169), sowie ferner, daß es erforderlich ist, die mikroskopischen Chromsilberkörner stundenlang zu spülen und untersuchen, bevor man aus ihrem Vorkommen oder eventuellen Verblasse einen so kleinen Chlorunterschied in der untersuchten Flüssigkeitsprobe feststellen kann.

Dies besagt indes, daß sich in unseren Analysenproben von Glomerulusflüssigkeit die verschiedenen Stoffe in absoluten Mengen finden, die mit der kleinsten nachweisbaren Menge des in Rede stehenden Stoffes zusammenfallen oder wenigstens nicht viel größer sind, und bezüglich vieler Stoffe dürfte die vorhandene Menge sogar kleiner sein als die kleinste sicher nachweisbare.

IX. Unter solchen Umständen ist es offenbar, daß wir durch Anstechen erhaltene Glomerulusflüssigkeit durch direkte Analyse niemals auch nur auf ihre Eigenschaften werden vollständig untersuchen können. Viele von ihren Stoffen finden sich in unseren Analysenproben in so geringen absoluten Mengen, daß sie den geringsten sicher beobachtbaren Mengen gleich sind oder hinter ihnen zurückbleiben, und hierdurch werden positiv ausfallende Reaktionen unsicher, negativ ausfallende verlieren jeglichen sachlichen Wert, und wir können nicht entscheiden, ob die in Rede stehenden Stoffe wirklich in der Glomerulusflüssigkeit vorhanden sind oder nicht.

*Mikrochemische Mengenuntersuchungen sind bezüglich aller Bestandteile der Glomerulusflüssigkeit außer Chlor und vielleicht Harnstoff und Zucker von vornherein ausgeschlossen.* Man kann nicht auf einen Stoff titrieren, der in einer absoluten Menge von höchstens 0,00010 mg vorliegt, wenn seine kleinste nachweisbare Menge nur ausnahmsweise so klein sein dürfte wie 0,00003 mg. Stoffe wie Harnstoff und Zucker, deren absolute Menge etwa 0,000 50 mg in den Titraten beträgt, können nur titriert werden, wenn man wirklich sicher eine so kleine Menge von ihnen wie 0,000 03 mg nachweisen kann. Sollten die Methoden hierfür nicht empfindlich genug sein, so muß man die Konzentration der Substanz im Plasma auf wenigstens 100 Milliprozent erhöhen, ein Ausweg, der bezüglich Harnstoff und Zucker gangbar sein mag, der aber bezüglich anderer Harnbestandteile nicht möglich ist, ohne das Versuchstier vollständig zu vergiften.

Wir werden uns nicht bei dem Grade von Sicherheit aufhalten, der den Ergebnissen der äußerst wenigen Titrierungen zukommt, die nicht schon aus theoretischen

Gründen ganz ausgeschlossen sind; dieser Grad von Sicherheit geht aus dem hervor, was wir schon im früheren bezüglich der Chlortitrierungen sagten, der verhältnismäßig leichtesten und sichersten von allen (s. S. 451, oben).

X. Nachgewiesen zu haben, daß die Wasserstoffionenkonzentration der Glomerulusflüssigkeit der des Plasmas näher ist als der des endgültigen Harns und vielleicht jener gleich ist; nicht widerspruchlos entschieden zu haben, ob die beiden Flüssigkeiten denselben Gesamtsalzgehalt haben oder nicht; mit zweifelhafter Sicherheit den Chlorgehalt der Glomerulusflüssigkeit festgestellt zu haben; mit noch größerer Unsicherheit vielleicht noch einen oder anderen Stoff titrieren zu können; nachgewiesen zu haben, daß die Glomerulusflüssigkeit normalerweise eiweißfrei und bei Albuminurie immer eiweißhaltig ist; in ihr das Vorkommen von einem halben Dutzend biologischer, normaler und pathologischer Harnbestandteile festgestellt zu haben; vielleicht außerdem noch ebenso viele qualitativ nachweisen zu können, und nachgewiesen zu haben, daß die Glomerulusflüssigkeit Anilinfarben enthält, wenn sie in den Harn übergehen — *das sind die Ergebnisse, die die direkte mikrochemische Analyse der durch Anstechen entnommenen Glomerulusflüssigkeit bisher erreicht hat, und die sie hoffen kann, in Zukunft zu erreichen.*

Es gibt nichts in diesen Ergebnissen, was der Filtrations-Resorptions-theorie widerstreitet, alle einigermaßen sicheren unter ihnen sprechen für sie, besonders das reichliche Vorkommen von Chlor und Zucker in der Glomerulusflüssigkeit, selbst wenn der fertige Harn diese Stoffe nur in Spuren oder überhaupt nicht enthält. Andererseits finden wir nichts in diesen mageren Ergebnissen, was uns gestattet, sicher oder auch nur mit dem bescheidensten Grade von Wahrscheinlichkeit zu entscheiden, ob die Glomerulusflüssigkeit ein Ultrafiltrat vom Plasma ist oder nicht.

Es ist nämlich durchaus denkbar, daß ein Sekretionsprodukt sämtliche Bestandteile eines Ultrafiltrates enthält, wenn auch in anderen Konzentrationen; ja, es ist sogar vollständig denkbar, daß das Sekretionsprodukt sämtliche Bestandteile des Ultrafiltrates — einen einzigen Stoff ausgenommen — in denselben Konzentrationen enthält, wie das Ultrafiltrat. Solange wir nicht die Konzentration *jedes* Bestandteiles der Glomerulusflüssigkeit bestimmt haben, solange hat unsere direkte chemische Analyse *nicht mit Sicherheit* entschieden, ob die Glomerulusflüssigkeit wie ein Ultrafiltrat zusammengesetzt ist oder nicht; und wir können dabei *nichts mit Wahrscheinlichkeit* sagen, solange wir nicht vermochten, in der Glomerulusflüssigkeit *qualitativ* so gut wie alle Bestandteile eines Ultrafiltrats des Plasmas nachzuweisen, und solange wir nicht *die Konzentrationen* wenigstens für die Mehrzahl von diesen, sich ungefähr auf Hundert belaufenden Stoffen bestimmt haben.

Hieraus und aus dem früher Gesagten geht hervor, daß der Unterschied zwischen dem, was wir über die Zusammensetzung der Glomerulus-

flüssigkeit wissen sollten, und andererseits dem, was uns die direkte mikrochemische Analyse offenbart hat oder vielleicht in Zukunft noch zeigen kann, gar nicht größer sein könnte, als er ist.

*Direkte chemische Analyse der durch Anstechen gewonnenen Glomerulusflüssigkeit ist also für den Nachweis, ob diese Flüssigkeit ein Ultrafiltrat ist oder nicht, völlig unzureichend und kann keine bestimmten Ergebnisse zutage fördern (s. Principles, S. 337—348).*

XI. Ich habe aber in meinen Principles, S. 348—350, einen neuen Weg angedeutet, der mir im Gegensatz zu allen im früheren besprochenen die Möglichkeit zu bringen scheint, endgültig die Frage zu entscheiden, ob die glomeruläre Exsudation ein Ultrafiltrationsvorgang ist oder nicht.

Im Gegensatz zur Mehrzahl anderer solcher Versuche geht der sog. Eiweißbeweis von Beobachtungen aus, die unmittelbar an der Glomerulusflüssigkeit gemacht sind; gleichzeitig vermeidet er aber alle die technischen und anderen Schwierigkeiten, die die mikrochemische Methode für diesen Zweck vollständig unwendbar machen.

Auch in vielen anderen Beziehungen scheint mir der sog. Eiweißbeweis beträchtliche Vorteile vor anderen bisher versuchten Verfahren zu besitzen (Principles, S. 346—348), und soweit ich sehen kann, bildet der Eiweißbeweis eine vollständig geschlossene Beweiskette, und jedes von ihren Gliedern scheint mir durch zahlreiche und allgemein angenommene Beobachtungen mittels der verschiedensten Methoden gut bewahrt zu sein.

Ist nicht nachweisbar, daß der Eiweißbeweis an Unsicherheits- oder Schwächenmomenten leidet, so muß der aus ihm sich ergebende Schluß, daß die Glomerulusflüssigkeit ein Ultrafiltrat des Plasmas ist, angenommen werden; *bevor nicht bewiesen ist, daß der Eiweißbeweis falsch ist, kann kein Grund entgegengesetzten Inhaltes gutgeheißen werden*, besonders mit Rücksicht auf die oben angedeuteten Erfahrungen über die Zuverlässigkeit unserer anderen Untersuchungsmethoden usw.

Aus diesen Gründen sei nun der Eiweißbeweis zur Beurteilung und Erörterung vorgelegt; ist er haltbar, so bildet er einen Hauptpunkt bezüglich der Leistung der Niere, ist er falsch, so kann es für die Nierenphysiologie nur von Vorteil sein, wenn seine Schwächen aufgezeigt werden, denn es geht nicht an, daß wir wie bisher unsere Zeit auf endlose Erörterungen mittels zweifelhafter oder unmöglicher Methoden mangelhaft bewahrheiteter Beobachtungen verschwenden (Principles, S. 568—570).

Der Eiweißbeweis ist schließlich auch insofern von Bedeutung, als ähnliche Gedankengänge ziemlich direkt auf verschiedene nicht die Nieren betreffende biologische Probleme anwendbar sein dürften, z. B. bezüglich des Substanz-austausches zwischen Blut und Lymphe (Principles, S. 476); ruht der Eiweißbeweis auf einem richtigen Gedankengang, so können sich ferner aus ihm sowohl innerhalb als außerhalb des Gebietes der Nephrologie leicht vielerlei Anregungen zu experimentellen Untersuchungen ergeben.

XII. Der Eiweißbeweis für die Ultrafiltrationsnatur der Glomerulusexsudation besteht, kurz zusammengefaßt, aus folgenden Punkten (Principles, S. 348—350 und 472—475).

*Bei Albuminurie wird in den Glomeruli stets Eiweiß ausgeschieden.* Natürlich kann eine gewisse Menge von Eiweiß bei Albuminurie aus zerfallenen Kanälchenzellen stammen (Principles, S. 350 und 387), der unvergleichlich größte Teil des Harn-eiweißes ist aber Serumeiweiß, und

dieses wird von den Glomeruli ausgeschieden, in deren Kapselflüssigkeit regelmäßig Eiweiß — oft in bedeutender Menge — nachweisbar ist, und zwar bei den verschiedensten Arten von Albuminurie und mittels der verschiedensten Untersuchungsmethoden (Principles, S. 350—389).

Diese glomeruläre Eiweißausscheidung wird durchwegs als ein Durchsickern von Eiweiß durch mehr oder weniger geschädigte Glomerulusemembranen betrachtet. Zahlreiche Beobachtungen bestätigen auch die Richtigkeit dieser Annahme, indem die Eiweißexsudation um so ausgesprochener wird, je schwerer der Glomerulusschaden ist; sie wird übermäßig, wenn die Glomeruli so schwer geschädigt sind, daß vitale Tätigkeit ganz ausgeschlossen ist. Es gibt mannigfaltige Beweise dafür, daß Glomerulusemembranen dieses Eiweiß nicht aktiv ausscheiden und diese Beweise scheinen mir vollständig bindend zu sein; auch bei Durchströmung der toten Niere erfolgt eine gewaltige Ausscheidung von Eiweiß in ihren Glomeruli (Principles, S. 389—402).

Es ist indes offenbar, daß eine Membran, die ihre normale Fähigkeit der Zurückhaltung von Eiweiß verloren hat und für dieses passiv durchgängig wurde, *unmöglich Stoffe mit wesentlich kleineren Molekülen daran hindern kann, auf dem Wege von Osmose, Diffusion und Ultrafiltration frei hindurch zu laufen. Wenn diese Vorgänge in Glomeruli, durch deren Membranen das Eiweiß leckt, nicht zu verhindern sind, so können diese auch keine wirkungsvolle Absonderung der übrigen Bestandteile des eiweißhaltigen Harns bewerkstelligen*, die alle unvergleichlich kleinere Moleküle haben als Eiweiß, und die alle diffusibel sind, die meisten in hohem Grade.

Sekretion, als Gegensatz zu Ultrafiltration, besagt nämlich, daß das Sekretionsprodukt insofern von einem Ultrafiltrat abweicht, als es andere Bestandteile enthält als das Ultrafiltrat, oder sie in einer anderen Konzentration enthält, oder daß das Sekretionsprodukt einen oder mehrere von den Bestandteilen des Ultrafiltrates vermissen läßt; *bei Sekretion besteht in einer oder mehreren Beziehungen eine Konzentrationsverschiedenheit zwischen den beiden Flüssigkeiten.*

Nun bildet sich die Glomerulusflüssigkeit an der vom Capillarlumen abgewendeten Fläche der Glomerulusemembranen, d. h. in weniger als  $1\mu$  Abstand vom Plasma; soll aber bezüglich eines oder mehrerer der normalen Bestandteile des Harns ein Unterschied zwischen diesen einander so nahe befindlichen Flüssigkeiten geschaffen oder aufrecht erhalten werden können, so müssen sie offenbar gut voneinander getrennt sein, so daß die osmotischen und Diffusionskräfte die möglichen Konzentrationsunterschiede nicht in statu nascendi ausgleichen können.

Wir können kaum ernst die Möglichkeit in Betracht ziehen, daß *ein Sekretionsprodukt genau so zusammengesetzt wäre wie ein Ultrafiltrat*; wenigstens bietet die ganze Biologie kein Beispiel für eine solche Möglichkeit. Theoretisch gibt es natürlich eine Möglichkeit hierfür; wenn die Druckverhältnisse keine Ultrafiltration zulassen, so muß das Exsudat nämlich auf eine andere Weise gebildet sein, wenn auch seine Zusammensetzung gleich der des Ultrafiltrats ist.

Eine Exsudation unter Druckverhältnissen, die von den die Ultrafiltration bestimmenden abweicht, setzt indes voraus, daß das Blut (Plasma) und das Exsudat streng voneinander getrennt sind, auch für den Fall, daß das Exsudat wie ein Ultrafiltrat zusammengesetzt ist. Ist die Membran für Wasser und die gewöhnlichen im Plasma vorgebildeten Bestandteile des Harnes durchgängig, wie es bei Eiweißleckage der Fall sein muß, dann strömt die Flüssigkeit in die Capillaren zurück, wenn die Exsudation größer sein sollte, als es dem wirksamen Filtrationsdruck bei einer Ultrafiltration entspricht, und umgekehrt (Principles, S. 447—448). Das heißt, der Grad der möglichen Absonderung deckt sich vollständig mit dem Grade einer möglichen Ultrafiltration.

*Soll die Glomerulusflüssigkeit in bezug auf ihre Menge oder Zusammensetzung von einem in den Glomeruli gebildeten Ultrafiltrat abweichen, d. h., soll sie ein Sekretionsprodukt sein können, so muß sie vom Plasma durch eine Glomerulusemembran getrennt sein, die Osmose und Diffusion verhindert (Principles, S. 446—454).*

Offenbar hat die Glomerulusemembran keine Möglichkeit, als eine solche Schranke gegen die diffusiblen, gewöhnlichen Harnbestandteile zu fungieren, wenn sie dem Eiweiß gestattet, hindurch zu sickern, und *bei glomerulärer Albuminurie ist es also vollkommen ausgeschlossen, daß die Glomeruli diese Stoffe absondern könnten.*

Wäre es nun so, daß die normale Glomerulustätigkeit sekretorischer Art wäre, so könnten wir unmöglich glauben, daß die Glomeruli anatomisch außer Stand gesetzt werden könnten, sie auszuüben, und daß diese ihre normale Tätigkeit aufgehoben und durch eine höchst verschiedenartig wirkende Tätigkeit ersetzt würde, ohne daß gleichzeitig eine Veränderung oder Störung der Harnbildung eintreten würde. Die Tätigkeit der Glomeruli ist ja, von einem gewissen Standpunkte gesehen, die allerwichtigste Teilverrichtung der Nieren: wir haben keine Beispiele dafür, daß die Kanälchen arbeiten können, wenn die Glomerulustätigkeit aufgehoben ist, wohl aber umgekehrt, wie die bedeutende glomeruläre Ausscheidung zeigt, die im Herz-Lungen-Nierenpräparat erhalten wird, nachdem die Kanälchen durch Cyanid vollständig ausgeschaltet wurden. Die Ausschaltung der vielleicht wichtigsten Ausscheidungsvorrichtung der Niere, der Ersatz ihrer normalen Leistung durch etwas ganz anderes, die Bildung eines glomerulären Exsudates, das vom normalen verschieden ist, mußte natürlich zu drastischen Veränderungen in der Harnbildung führen.

*Verhielte es sich so, daß die Glomeruli normalerweise gewisse Harnbestandteile sezernieren würden, so könnten wir also bei Albuminurie niemals Harn erhalten, der, abgesehen vom Vorkommen von Eiweiß, in jeder Beziehung, sowohl betreffs der Menge als auch der Zusammensetzung völlig normal ist; bei Eiweißharnen kann nämlich keine Sekretion in den Glomeruli zustande kommen, sondern nur ultrafiltrative Exsudation.*

*Finden wir andererseits, daß eiweißhaltiger Harn in bezug auf seine relativen und absoluten Mengen von gewöhnlichen Harnbestandteilen vollständig normal sein kann, so müssen wir den Schluß ziehen, daß die*

*Albuminurie und die dabei ausgeschlossene Sekretionsfähigkeit der Glomerulismembranen keine grundlegende Änderung ihrer Funktionsweise gegenüber den gewöhnlichen Harnbestandteilen mit sich bringt; wir müssen ferner daraus schließen, daß diese Stoffe sowohl normalerweise als auch bei Albuminurie die Glomerulismembranen durch Ultrafiltration durchlaufen.*

Nun ist allerdings richtig, daß Niereninsuffizienz fast ausnahmslos von Albuminurie begleitet ist; dieser Satz läßt sich aber nicht umkehren, indem Albuminurie ohne Spur einer Niereninsuffizienz oder auch nur der leichtesten Veränderung in der Ausscheidung der normalen Harnbestandteile eine so häufig vorkommende Erscheinung ist, daß der Arzt im allgemeinen viel mehr Fälle jener als dieser Art von Albuminurie sieht. Wir finden oft einen, abgesehen von seinem Eiweißgehalt, in allen Beziehungen nach Menge und Zusammensetzung normalen Harn, nicht nur bei allerlei vorübergehenden Albuminurien, bei febriler Albuminurie (beginnende Nephrose, „renalir Irritation“ usw.), sondern wir können dies auch bei langwierigen Albuminurien finden, wir können es bei leichten Albuminurien und bei den massivsten von allen, bei gewissen Nephrosen finden, sowie bei Albuminurien der meisten leichten und einiger schweren Vergiftungen, und bei reiner Stauungsniere (Princ., S. 402—416).

*Aus dieser Normalität bezüglich der Ausscheidung der gewöhnlichen Harnbestandteile bei allerlei Albuminurien folgt natürlich, daß sie in normaler Weise in der Niere ausgeschieden werden, daß also unter anderem die Glomeruli, was diese Stoffe anbelangt, normal funktionieren, daß Ultrafiltration also sowohl normalerweise als auch bei Albuminurie die Form ist, in der sich die Verrichtung der Glomeruli abspielt; sie können nämlich bei Albuminurie, wie gesagt, keinesweges sezernieren, sondern nur ultrafiltrieren, und dies bedeutet keine Abweichung von ihrer normalen Wirkungsweise gegenüber den gewöhnlichen Harnbestandteilen.*

Dies ist in großen Zügen der Eiweißbeweis für die glomeruläre Filtration, den ich zum Gegenstand einer nephrologischen Erörterung gemacht zu sehen wünschte, damit seine Stärke oder Schwäche festgestellt werde. Die Aufmerksamkeit für eine solche Erörterung dürfte am besten dadurch angeregt werden, daß der Eiweißbeweis in diesem Aufsatz nur in seinen Hauptlinien vorgelegt wird. Wer sich für die verschiedenen Einzelheiten dieser Gedankenkette näher interessiert, sei auf meine Principles, Kapitel 36—46, verwiesen, wo ich mir viele Mühe gab, zu ermitteln, in welchem Maße die verschiedenen Glieder der Kette bewahrt werden können, und in welchem Maße andere Deutungen der in Rede stehenden Beobachtungen möglich sind. Inwieweit meine Ansichten dabei imstande sein werden, der Kritik standzuhalten, bleibt abzuwarten, ich kann aber nicht unterlassen, hier darauf hinzuweisen, daß mir der fast axiomatische Schluß, zu welchen der Eiweißbeweis, wie er oben skizziert ist, führt, bei meinen Versuchen seine Grundlage näher zu prüfen, keineswegs weniger glaubhaft geworden ist.



XIII. Hier will ich nur auf eine einzige Einzelfrage eingehen, nämlich darauf, ob bei *Albuminurie Eiweißleckage in allen Glomeruli vorkommt*. Es wäre nämlich denkbar, daß die normale Beschaffenheit des Harns bezüglich der gewöhnlichen Harnbestandteile darauf beruht, daß nur in einigen wenigen Glomeruli Eiweiß leckte und also die Sekretion nur in diesen aufgehoben war, während in der Mehrzahl der Glomeruli die Fähigkeit der Membranen, Osmose und Diffusion zwischen Plasma und Glomerulusflüssigkeit zu verhindern, erhalten blieb.

Es soll keineswegs bestritten werden, daß die Exsudation von Eiweiß, besonders bei leichteren und mehr vorübergehenden Formen von Albuminurie auf verhältnismäßig wenige Glomeruli beschränkt sein kann. Doch sei gleich betont, daß sich dieses Zugeständnis nur auf allgemeine Gründe und nicht auf direkte Beweise stützt. Der einzig mögliche Beweis, nämlich der, daß bei solchen sehr leichten und flüchtigen Albuminurien der Eiweißniederschlag in histochemischen Präparaten nur in einer kleineren Zahl von Kapselräumen zu entdecken ist, sagt nämlich *nicht das geringste* darüber, ob wirklich kein Eiweiß in die scheinbar eiweißfreien Kapseln geleckert ist. Die Eiweißexsudation muß nämlich einen gewissen und nicht allzu geringen Grad erreichen, bevor es überhaupt möglich wird, Eiweißmenge in histochemisch sichtbarer Form in den Kapselräumen auszufallen (Principles, S. 353 bis 355 und 374—379).

Andererseits haben wir keinen Mangel an Beispielen dafür, daß *Eiweiß überall in den Glomeruli der Niere ausgeschieden werden kann*. Von besonderem Interesse ist, daß die Fälle von entwickelter, unkomplizierter, genuiner Nephrose die besten von diesen Beispielen liefern, denn hier können wir besonders gut zeigen, daß die Nierenleistung, was die Ausscheidung der gewöhnlichen Harnbestandteile betrifft, trotz der hochgradigsten Albuminurie immer nahezu und oft vollständig normal ist (Principles, S. 407—410). Nichtsdestoweniger haben sämtliche Glomeruli Eiweiß ausgeschieden, sie waren also nicht imstande zu sezernieren, sondern nur zu filtrieren. Daß Eiweißdurchsickern bei der ausgebildeten genuinen Nephrose in sämtlichen Glomeruli der Nieren stattfindet, geht nämlich daraus hervor, daß „fast alle Kapselräume in mikroskopischen Präparaten mit geronnenem Eiweiß prall gefüllt“ erscheinen; der Umstand, daß einige der Kapselräume vielleicht frei von geronnenem Eiweiß erscheinen, sagt erstens nicht das geringste darüber, ob wirklich kein Eiweiß in sie geleckert ist, und ist zweitens nur eine Folge davon, daß nur etwa 75% der Glomeruli bei einer gewöhnlichen und noch weniger bei einer schwachen Diurese arbeiten. Beim Absterben eines schwer erkrankten Menschen ist doch die Harnflut sehr schwach, und wenn wir also die große Mehrzahl der Glomeruluskapseln in einer nephrotischen Niere prall mit geronnenem Eiweiß gefüllt finden, so beweist dies, daß nicht nur in den wenigen oder sogar nur vereinzelt Glomeruli, die vor dem Tode arbeiten, sondern in allen, die vielleicht während des ganzen letzten Lebensstages des Patienten gearbeitet hatten, eine gewaltige Eiweißleckage vor sich ging.

Diese ausgebreitete glomeruläre Eiweißleckage ist auch nicht erst sub finem vitae aufgetreten. Sie ist keine Sterbe- oder Leichenerscheinung, denn die Eiweißniederschläge in den Kapselräumen fehlen vollständig bei Personen, die mit gesunden Nieren gestorben sind. Dies bezeugen auch die in allen Kanälchen vorliegenden schweren morphologischen Nephroseveränderungen. Solche Veränderungen entstehen nicht in einem Tage, und unsere klinischen Harnuntersuchungen haben uns Wochen vor dem Tode des Kranken klagemacht, daß er eine Nephrose und demzufolge überall in der Niere solche Kanälchenveränderungen hatte.

Kaum ein einziges Kanälchen in der Niere ist in nennenswertem Grade von den für die entwickelte Nephrose so kennzeichnenden, schweren Zellveränderungen verschont geblieben. Dies besagt nochmals, daß sämtlich Glomeruli der Niere in ungefähr gleichem Grade den Giften ausgesetzt waren; die die tubulären Zellveränderungen der Nephrose hervorrufen und die Glomerulusmembranen so schädigen,

daß sie Eiweiß hindurchlassen. Die Giftstoffe, die z. B. bei schweren tuberkulösen oder septischen Erkrankungen im Körper gebildet werden, können nämlich die Kanälchen nicht erreichen, ohne vorher die betreffenden Glomeruli durchlaufen zu haben; Vasa recta gibt es nämlich in den Nieren nicht (Principles, S. 600).

Ähnliche Erwägungen können wir betreffs zahlreicher anderer Fälle von nachweisbarer glomerulärer Albuminurie bei einer sensu strictiori normalen Nierenleistung anstellen, sowohl bei der entwickelten Stauungsniere als auch bei der beginnenden Nephrose. Die Ausbreitung der Stauungserscheinungen in der Niere bzw. die Ausbreitung der trüben Schwellung in den Kanälchen usw. beweisen, daß das schädliche Agens die Mehrzahl nicht nur der Tubuli sondern auch der Glomeruli (oder alle) betroffen hat. Die Anzahl der Eiweißniederschläge zeigenden Kapseln ist allerdings lange nicht so groß wie bei der Nephrose, aber wenigstens bei der Stauungsniere ist sie weit größer als die Zahl der wenigen Glomeruli, die in der letzten halben Stunde vor Eintritt des Todes in nennenswertem Grade gearbeitet haben können, und bei einer leichten Albuminurie ist dies schön genug, denn man kann hier nicht erwarten, daß sich Eiweiß in den Kapselräumen überall sichtbar ausfällen und daß es sich gar lange Zeit nach Verringerung des Flüssigkeitsstromes auf einen Mindestwert nachweisen läßt.

Es fällt uns also nicht schwer, Fälle zu finden, bei welchen *keine Störung in der Ausscheidung normaler Harnbestandteile vorlag, trotzdem die Glomeruli mehr oder weniger allgemein für Eiweiß durchgängig waren*, und besonders lehrreich sind diesbezüglich die entwickelten genuinen Nephrosen, bei welchen sich sicher alle oder fast alle Glomeruli so verhielten.

Ich möchte in diesem Zusammenhange auf S. 358—361 der Principles hinweisen, wo über eine große Zahl von *Glomerulopunktionen bei Fröschen mit mehr oder weniger ausgesprochener Albuminurie* berichtet wird. In keinem Falle wurde eiweißfreie Glomerulusflüssigkeit erhalten, wo der Blasenharn des Tieres *deutlich* eiweißhaltig war. Bei einigen Tieren, deren Blasenharn nur *Spuren* von Eiweiß enthielt, konnten sich einzelne Glomeruluspunktate bei einer etwas vereinfachten *Hellerschen* Mikroprobe als eiweißfrei erweisen, obgleich die Mehrzahl der Punktate auch bei diesen Tieren mäßige bis reichliche Eiweißmengen enthielten. Ich entnahm im ganzen 79 eiweißhaltige Punktate von 32 Tieren. Dies zeigt, daß die Kapselflüssigkeit wenigstens bei manifesten Albuminurien stets Eiweiß enthält, aus welchem Glomerulus der Niere sie auch entnommen ist.

XIV. Ich habe im obigen unter anderem darüber gesprochen, *welch begrenzter Wert der direkten mikroskopisch-chemischen Analyse<sup>1</sup> sehr kleiner Flüssigkeitsmengen zukommt, wenn es gilt, verwickelte Nierenprobleme zu entscheiden*. Solche Analysen, die an der durch Anstechen erhaltenen Glomerulusflüssigkeit ausgeführt werden, besitzen zweifellos

<sup>1</sup> Es ist vielleicht überflüssig hervorzuheben, daß meine Kritik der mikroskopischen chemischen Analysemethoden sich nicht auf solche Verfahren bezieht, wo die zu untersuchende Probe 0,05—0,1ccm oder mehr beträgt. Weder die Apparatur noch das technische Verfahren erfordern hier mikroskopische Anordnungen. Der Endpunkt der Titrierungen ist ohne weiteres sichtbar, und man mißt die kleinen Flüssigkeitsmengen und überführt sie von einem Gefäß in ein anderes in etwa derselben Weise, wie man größere Volumina mit gröberen Pipetten und Büretten überführt und mißt. Es besteht in dieser Hinsicht kein nennenswerter Unterschied zwischen z. B. einer gewöhnlichen Chlorbestimmung im Plasma und einer Chlorbestimmung nach *Rehberg*, dessen gar nicht mikroskopische „Mikromethode“ ich für Plasma-proben von 0,05—0,1 ccm viel benützt und vorzüglich befunden habe (Principles S. 199—206).

einen unermesslichen Vorzug vor der großen Menge der anderen versuchten Methoden, insofern als sie unmittelbare Beobachtungen darüber sind, was die Glomeruli ausscheiden; infolge des kleinen Volumens von Glomerulusflüssigkeit aber, das für die direkte Analyse zur Verfügung steht, werden die Beobachtungen, die wir auf diese Weise machen können, teilweise ziemlich unsicher und jedenfalls viel zu fragmentarisch, um mehr als einen verschwindend kleinen Bruchteil dessen zu lehren, was wir wissen müßten, um entscheiden zu können, ob Glomerulusflüssigkeit ein Ultrafiltrat vom Plasma ist oder nicht.

Diese kritischen Punkte sind nicht nur für die sachliche Beurteilung der Gründe von Bedeutung, die sich mittels der in Rede stehenden Methode für oder gegen verschiedene Anschauungen in der Nierenphysiologie vorbringen lassen; *sie sind auch für die wissenschaftliche Arbeit auf vielen anderen Gebieten der Biologie von großer Bedeutung*, was die Veranlassung dafür ist, daß ich diese Punkte hier so eingehend vorgelegt habe.

Da unsere physiologisch-chemischen Untersuchungsmethoden bisher mit einzelnen Ausnahmen eigentlich in das Gebiet der humoralen Biologie fallen, so haben bekanntlich unsere Kenntnisse über das chemische Leben der Zellen weder mit der Entwicklung der humoralen noch mit derjenigen der morphologischen Biologie annähernd gleichen Schritt gehalten. Wir sind zum großen Teil nicht imstande, die funktionelle Bedeutung unserer zahlreichen Beobachtungen über die Morphologie der Zellen und Gewebe näher zu deuten und vermögen im allgemeinen nicht, unsere Kenntnisse über die humoralen Verhältnisse und Reaktionen so zu erweitern, daß sie auch die zelligen Erscheinungen umfassen würden, von welchen die an den Flüssigkeiten nur eine Folge und eine Widerspiegelung sind. Diese Widerspiegelung ist aber sehr verschwommen, weil so viele Zellen verschiedener Art und verschiedener Abstufung ihrer Wirkung für die Eigenschaften der Organsäfte, der Lymphe und des Blutes verantwortlich sind; diese Widerspiegelung ist auch sehr unsicher, weil alle die Flüssigkeiten so außerordentlich verwickelt sind und weil kaum eine einzige Eigenschaft der einen Flüssigkeit eine einfache Abänderung einer Eigenschaft einer der anderen Flüssigkeiten ist, sondern das Endergebnis einer langen Reihe von verwickelten, ineinandergreifenden, zum großen Teil intra-ellulären Reaktionen.

Es besteht jeder Anlaß vom Spiegelbild zur Wirklichkeit, von den mehr sekundären Verhältnissen der körperlichen Flüssigkeiten zu den ursachenden Reaktionen der Zellen der verschiedenen Gewebe hervorzudringen zu versuchen.

Es gibt zwar einige wenige Verfahren, um die Physiologie der Zellen besser zu erforschen als es die humorale Arbeitsweise uns bisher erlaubte. So hat z. B. die Züchtung von normalen Geweben sowie von Geschwülsten schon in verhältnismäßig kurzer Zeit Ergebnisse erreicht, die anzuzeigen

scheinen, daß das Studium von Zell-Leistungen und -Reaktionen für die gesamte Biologie ebenso umwälzend wird, wie das Studium der Zellmorphologie, in den Spuren des Gründers dieser Zeitschrift folgend, sich einst bewies.

Leider sind diese neuen Methoden nicht für alle Zwecke brauchbar, und es liegt dann nahe zu versuchen, ob nicht unsere humoralen Methoden, mit denen ja beinahe alle Eigenschaften und Veränderungen der Körperflüssigkeiten meßbar sind, auch zu zelligen Kleinzwecken brauchbar wären.

Es mag tatsächlich verlockend erscheinen, zu versuchen, die Schwierigkeiten, die unsere hauptsächlich humorale, physiologisch-chemische Arbeitsweise bietet, wenn es gilt das chemische Leben der Zelle und des Gewebes zu untersuchen, durch Aufsammlung und direkte Analyse des Proto- und Cytoplasmas der Zellen oder des Gewebesafte der intercellulären Spalträume zu umgehen. Tatsächlich wird jetzt von vielen Seiten erhebliche Arbeit auf die Ausarbeitung hierfür geeigneter mikrochemischer Methoden verwendet. Der Mehrzahl dieser Versuche gegenüber muß man sich jedoch höchst zweifelsüchtig verhalten.

Von Glomerulusflüssigkeit kann man doch einen oder mehrere Kubikmillimeter erhalten; eine *Gewebezelle* von kubischer Form mit einer Seite von  $20\ \mu$  hat aber nur ein Volumen von  $8000\ \text{Kubik-}\mu = \frac{1}{125000}\ \text{cmm}$ . Sogar bei einem so reichlich durchtränkten Gewebe wie dem der Niere kann man aus den *Intercellulärräumen* kaum mehr als  $0,0025\ \text{cmm}$  auf sammeln (Principles, S. 215 und 235—236). Es ist ja natürlich, daß ein gewaltiger Unterschied zwischen den Flüssigkeitsmengen bestehen wird, die aus einem so ausgesuchten Ausscheidungsapparate erhältlich sind, wie es der Glomerulus allem Anschein nach ist, und den spärlichen Mengen, die aus Gewebezellen oder deren Kernen oder aus den intercellulären Spalträumen aufgesammelt werden können.

Gleichwohl waren die verhältnismäßig so ungeheuren Mengen von Glomerulusflüssigkeit zu klein, um einer unmittelbaren chemischen Analyse unterworfen werden zu können, außer in einigen wenigen einfachen Beziehungen, und die so erhaltenen Ergebnisse sind viel zu fragmentarisch, um in einem verwickelten biologischen Problem, wie es die Ultrafiltration ist, auch nur den Schatten eines Beweises zu geben. Die Schwierigkeiten, welche die Glomerulus-Flüssigkeitsproben durch ihre geringe Menge in bezug auf die Aufsammlung, Aufbewahrung und Untersuchung boten, sind nichts gegen diejenigen, die sich bei der Behandlung dieser anderen, unvergleichlich geringeren Mengen auftürmen, wenn man sie mit einem annehmbaren Grade von Sicherheit und Genauigkeit untersuchen will. Alles, was wir in diesen Punkten über unmittelbare mikrochemische Untersuchung von Glomerulusflüssigkeit anführten, gilt in noch höherem Grade von ähnlichen Untersuchungen des Intercellular-

saftes, des Cyto- und Protoplasmas, und soll daher hier nicht wiederholt werden. Es gibt eine untere Grenze, wo die Proben zu klein sind, um direkter chemischer Untersuchung zugänglich zu sein. Die Chemie verhält sich diesbezüglich wie die Mikroskopie: wie erklärend und exakt die letztere auch ist, sie ermöglicht nicht die Untersuchung kleinerer Objekte als etwa  $0,1\text{--}0,3\ \mu$  im Durchmesser. Schon die Flüssigkeitsmengen, die man aus einem Glomerulus erhalten kann, streifen oder unterschreiten in den meisten Beziehungen die untere Grenze des chemisch direkt analysierbaren; unvergleichlich kleinere Flüssigkeitsproben sind von dieser unteren Grenze noch weiter entfernt.

*XV. Ist also die unmittelbare mikrochemische Methode im großen ganzen für die Untersuchung verwickelter biologischer Probleme äußerst ungeeignet, so dürfte aus dem früher gesagten hervorgehen, daß sie für die Erforschung begrenzter Fragen kaum geeigneter ist.* Auch hier trifft natürlich zu, daß das, was von dem begrenzten Wert der Methode bei Untersuchung von Glomerulusflüssigkeit gilt, in noch viel höherem Grade auch auf die Untersuchung der unvergleichlich kleineren Flüssigkeitsmengen anwendbar ist, die aus Zelleninterstitien, Zellen usw. erhältlich sind.

Selbst nachdem wir durch den Eiweißbeweis Veranlassung bekommen haben zu glauben, daß die Glomerulusflüssigkeit ein Ultrafiltrat aus Plasma ist, können wir also mittels der direkten mikrochemischen Methode nicht einmal die sehr begrenzte Frage entscheiden, ob diese Ultrafiltration zur Entstehung sog. *Donnanscher Äquilibrien* führt oder nicht. Allerdings scheinen sämtliche Chlortitrierungen, außer *Wearn* und *Richards* älterer Reihe, zu zeigen, daß bei Ultrafiltration durch die glomerulären Membranen kein *Donnansches* Gleichgewicht entsteht; der Wert dieses an und für sich äußerst lehrreichen Ergebnisses wird aber ziemlich vollständig durch das aufgehoben, was wir über die Sicherheit der Titrierungen an so kleinen Proben wie derjenigen der Glomerulusflüssigkeit sagten.

Theoretisch hätten wir allen Grund, ein solches Äquilibrium zu erwarten, und meine Titrierungsergebnisse, bei welchen Plasma und Glomerulusflüssigkeit einen gleichen Chlorgehalt hatten, setzten mich anfänglich in höchste Verwunderung.

Bei näherer Betrachtung zeigt sich indes, daß unsere theoretischen Berechnungen diesbezüglich äußerst unsicher sind — begreiflicherweise, da sie sich ja auf eine Erfahrung gründen, die bei völlig unphysiologischen und stark vereinfachten Laboratoriumsversuchen erhalten wurde (*Principles*, S. 454—462). Ob *Donnans* Gleichgewichte bei Ultrafiltration von höchst komplexen Flüssigkeiten unter biologischen Verhältnissen überhaupt entstehen, ob sie sich nur in der Konzentration des Chlors oder in der Konzentration anderer negativer Ionen ausdrücken usw., all dies ist so verwickelt und von so zahlreichen Umständen beeinflusst, daß es gegenwärtig vollständig unmöglich ist, über das Vorkommen und die Größe dieser Gleichgewichte in irgendeinem Falle von biologischer Ultrafiltration allgemeine Urteile abzugeben; wir müssen jeden einzelnen Fall von biologischer Ultrafiltration für sich untersuchen.

Bisher hat uns *jegliche Möglichkeit gefehlt, diese Gleichgewichte unter einigermaßen biologischen Verhältnissen zufriedenstellend zu untersuchen.* Es wurden allerdings viele Versuche gemacht, sie bei den Capillarwänden im allgemeinen zu untersuchen, indem man vergleichende Untersuchungen über Plasma und Lymphe oder Trans- und Exsudate (Ascites, Pleura- und Ödemflüssigkeit usw.) machte. Die Ergebnisse

sind wenig überzeugend, vor allem wohl infolge der Schwierigkeit, völlig vergleichbare Proben von den verschiedenen Flüssigkeiten zu erhalten. So erhält man Exsudat und Lymphe nicht in statu nascendi, unmittelbar nachdem sie die Blutcapillaren verlassen haben und bevor sie durch die Tätigkeit der Zellen und der Gewebe der Umgebung usw. sekundär beeinflusst werden konnten. Die Plasmaproben wiederum stammen vom Blute der Arterien oder gewöhnlich von dem der oberflächlichen Venen, sie stellen die durchschnittliche Zusammensetzung des Blutes im Körper dar, sagen aber ziemlich wenig über die Eigenschaften des Capillarblutes in dem Organ, in welchem die Lymphe oder das Exsudat sich vorzugsweise gebildet hatte. Will man z. B. den Salzgehalt der Thoracicuslymphe mit dem des Blutes vergleichen, so sollte der Vergleich mit dem Capillarblut in den Darmwänden oder in der Leber oder mit einer Mischung beider Arten von Capillarblut gemacht werden. Betreffs des Salzgehalts ist allerdings kein größerer Unterschied zwischen dem Blute im allgemeinen und dem Blute in den einzelnen Organen zu vermuten, es kann aber ein recht bedeutender Unterschied in bezug auf die Menge und die Art der Eiweißkörper des Plasmas, das Vorkommen von gewissen Enzymen und Hormonen usw. bestehen, lauter Umstände, die auf *Donnans* Gleichgewicht großen Einfluß haben können (vgl. *Principles*, a. a. O.).

Nun kann man durch Glomerulusanstich sicherlich ein Exsudationsprodukt aus Plasma in statu nascendi erhalten, man kann es aber, wie gesagt, in bezug auf *Donnans* Gleichgewicht nicht zufriedenstellend mikrochemisch untersuchen; dazu sind die erhaltenen Mengen zu klein.

*Wie sollen wir nun diese Erscheinungen biologisch untersuchen können?* Betreffs der Bedeutung dieser Untersuchung möchte ich darauf hinweisen, daß viele sehr urteilsfähige Forscher die hierher gehörenden Fragen zu den allerwichtigsten Fragen der energetischen Biologie rechnen, Fragen, welche den Zusammenhang zwischen dem Bau der organischen Materie und deren Energieentwicklung und Energieinhalt engstens berührten.

Ich will mich gewiß nicht unterfangen, allgemeine Richtlinien für eine so bedeutungsvolle und schwere Arbeit angeben zu wollen. Ich will hier nur anzeigen, wie ein solches Problem in der Niere vielleicht erforscht werden kann, indem ich meine *Principles* mit einem Hinweis ergänze, den ich bei deren Abfassung anzuführen unterließ.

*Durch Cyaneinwirkung auf das Herz-Lungen-Nierenpräparat erhält man unveränderte Glomerulusflüssigkeit in reichlicher Menge.* Diese Flüssigkeit ist ferner ein Ultrafiltrat aus dem Plasma. Obgleich dieses Verhalten an und für sich nichts darüber sagt, ob auch der Cyaneinwirkung nicht ausgesetzt gewesene Glomeruli filtrieren, so können wir diese Lücke nunmehr mit dem Eiweißbeweise ausfüllen.

Nun ist es natürlich eine Voraussetzung für die Möglichkeit der Anwendung des Präparates zur Beleuchtung der *Donnanschen* Gleichgewichte und ähnlicher Erscheinungen, daß die Natur der Glomerulustätigkeit vor und nach der Cyanideinwirkung gleich bleibt, und diese Voraussetzung ist ja erfüllt, insofern als wir zeigen können, daß sowohl normale als auch der Cyanidwirkung ausgesetzt gewesene Glomeruli ultrafiltrieren, und insofern als die Cyanideinwirkung bei vorsichtiger Ausführung nicht zu einer nachweisbaren Veränderung der Eiweißundurchlässigkeit in den Glomerulusextrudaten zu führen braucht. (Ich betone nochmals, daß diese normale Beschaffenheit der Glomerulusextrudate nach Cyanideinwirkung sich nur auf die Zusammensetzung des Exsudates erstreckt, nicht auf dessen Menge; auf diese dürfen also keine unmittel- oder mittelbaren Schlüsse aufgebaut werden.)

*Wenn nun die besagte Voraussetzung gegeben ist, so kann man den Wert des Herz-Lungen-Nierenpräparates für die Untersuchung zahlreicher energetischer Probleme von mehr oder weniger engem Zusammenhang mit der biologischen Beförderung der Stoffe durch biologische Membranen kaum genug betonen.* Nachdem das Präparat der Cyaneinwirkung ausgesetzt worden ist, können wir ja aus dem Harnleiter reine

und von sekundären Veränderungen freie Glomerulusflüssigkeit gewinnen. Wir erhalten sie in reichlicher Menge, die für jede denkbare chemische Analyse ausreicht, und brauchen dabei nicht zu versuchen, uns mit schweren oder unsicheren Mikromethoden zu behelfen. Wir können ferner die Zusammensetzung der Glomerulusflüssigkeit mit der Zusammensetzung des Nierenblutes vergleichen, während beim Studium von Lymphe oder Trans- und Exsudat das Blut des aussondernden Organs unserer Untersuchung nicht zur Verfügung stand.

Das Blut unterliegt bei dem Durchlaufen durch die Niere keinen anderen Veränderungen als denen, die mit der Ultrafiltration zusammenhängen, da die Zellen der Niere nach der Cyaneinwirkung untätig sind. Wir besitzen also Möglichkeiten, die Einzelfragen der Ultrafiltrierung auch durch einen Vergleich zwischen dem der Niere zugeführten Blute und dem aus der Niere kommenden Blute in Angriff zu nehmen. Dazu kommt, daß wir im Herz-Lungen-Nierenpräparat die Eigenschaften des durchströmenden Blutes auf die mannigfachste Weise wechseln können (Principles, S. 672). So dürfte das Präparat ebenso viele Vorteile für die Erforschung der hier berührten Frage bieten, als andere Methoden Schwierigkeiten enthalten.

Selbst wenn die Einzeluntersuchung renaler Ultrafiltrationsvorgänge keine Ergebnisse geben sollte, die für die Biologie mehr allgemeingültige Bedeutung haben, so ist es natürlich sehr wichtig, daß die Ultrafiltration wenigstens an einer Stelle des Körpers wirklich unter einigermaßen biologischen Verhältnissen und in allerlei Einzelheiten untersucht werden kann.

Außerst große Beachtung kommt nun der Feststellung zu, daß die Glomerulusflüssigkeit auch im Herz-Lungen-Nierenpräparat genau denselben Chlorgehalt und denselben Gehalt von allen anderen diffusiblen Stoffen hat, wie das Plasma; ein Donnansches Gleichgewicht tritt also weder in bezug auf Chlor, noch bezüglich anderer Stoffe hervor, was, wie ich auf S. 457 meiner Principles betonte, deutlich zeigt, wie sehr man sich hüten muß, aus unseren bisher spärlichen theoretischen Kenntnissen in diesen Fragen zu weitgehende Schlüsse zu ziehen.

*XVI. Zusammenfassung.* Wir haben in diesem Aufsatz gewisse Beweise (den Eiweißbeweis) zur Erörterung vorgelegt, die mit großer Bestimmtheit darauf hindeuten scheinen, daß die glomeruläre Exsudation ein Ultrafiltrationsvorgang ist.

Wir haben angedeutet, daß das Herz-Lungen-Nierenpräparat weitere Möglichkeiten bietet, in allerlei mit biologischen Ultrafiltrationsvorgängen verbundene Einzelheiten einzudringen, von welchen einigen außerordentliche Bedeutung für die energetische Biologie zugeschrieben wurde.

Wir haben schließlich die Möglichkeit erörtert, speziellere oder allgemeinere hierhergehörige Fragen mittels mikroskopisch-chemischer Methoden unmittelbar zu untersuchen, Möglichkeiten, denen wir auf Grund nicht allzu unbedeutender Erfahrung sehr zweifelnd gegenüberstehen, ob diese Verfahren nun auf Nieren- oder auf andere Fragen bezüglich der Biologie der Zellen und der Gewebe angewendet werden.

---

### Schrifttum.

*Ekehorn:* On the Principles of Renal Function. Acta med. scand. (Stockh.) Suppl. 36 (1931).

---