

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen
(Direktor: Prof. Dr. E. LETTERER).

Studien zur Korrelation der Eiweißkörper des Blutplasmas und der Organe bei experimenteller Dysproteinämie.

I. Mitteilung.

Quantitative Bestimmungen des Stickstoff- und Eiweißgehaltes normaler Organe der weißen Maus.

Von

GERHARD SCHNEIDER.

(Eingegangen am 28. April 1955.)

Wie frühere Studien gezeigt haben, liegen den für das Amyloid-experiment charakteristischen, pathogenetisch aber unspezifischen Blut-eiweißverschiebungen morphologisch faßbare Organveränderungen zugrunde (GÖSSNER, SCHNEIDER, SIESS und STEGMANN). Es kommt in der Milz und Leber zu mesenchymalen Reaktionen und quantitativ-morphologisch betrachtet zur unproportionierten Organvergrößerung. Das relative Milzgewicht steigt mit dem Eintritt einer Globulinvermehrung im Serum an und in der Leber wird neben der Vermehrung der Endothelzellen eine lebhafte Proliferation lympho-histiocytärer Zellherde gefunden. Die Lebervergrößerung selbst ist Folge eines unmittelbar nach den ersten Injektionen von Natrium-Caseinlösung einsetzenden Teilungswachstums, das in späteren Stadien einem Volumenwachstum Platz macht. Mesenchymproliferation und Veränderungen des Leberparenchyms wurden morphologisch als Zeichen einer Stoffwechselsteigerung aufgefaßt und es lag nahe, diese als vermehrte Eiweißsynthese zu deuten, da der qualitativ histochemisch ermittelbare Ribonucleinsäuregehalt der Leberzellen wie derjenige der mesenchymalen Proliferationen in Milz und Leber deutlich vermehrt war.

Wenn so bereits morphologisch enge Relationen zwischen dem Eintritt einer Globulinvermehrung im Blutserum und geweblichen Reaktionen der Milz und der Leber auf Zusammenhänge der Dysproteinämie mit bestimmten Organveränderungen hinweisen, so sollte nunmehr auf die quantitative und qualitative Seite der Eiweißstoffwechselumstellung innerhalb der Organe eingegangen werden. Es galt daher zu prüfen, welche Eiweiß- und Stickstoffveränderungen an den Organen mit der akuten unspezifischen Dysproteinämie gleichlaufen, ihr vorausgehen oder folgen, um so zu sehen, ob und in welchem Verhältnis der Abhängigkeit diese beiden Größen, Organe und Blutplasma, bei der künstlich erzeugten Dysproteinämie stehen.

Frühere Studien über die Beeinflussung des Amyloidexperimentes durch Cortison (SCHNEIDER) hatten gezeigt, daß der dabei erzielten Dysproteinämie tiefgreifende Veränderungen des Eiweißstoffwechsels — kenntlich an einer allgemeinen Atrophie der Tiere mit Veränderungen der relativen Organgewichte und des Stickstoffbestandes der Gewebe — zugrunde liegen. Sie dienten teilweise als Ausgangspunkt für die nun gewählten Versuchsanordnungen.

Zur Darstellung des Gewebseiweißbestandes wurde am gesunden und behandelten Tier der Gesamtstickstoffgehalt von Leber, Milz, Nieren und Muskulatur und für die Leber auch der Rest-N- und Eiweißgehalt bestimmt. Das Lebereiweiß konnte durch besondere Aufarbeitung in wasserlösliches und unlösliches Eiweiß getrennt werden. Zugleich wurde das Verhalten des Körpergewichts und der Organgewichte von Leber, Milz und Nieren beobachtet. Um mit diesen Feststellungen am Einzeltier zu einer dynamischen, den Gesamtablauf der Dysproteinämie umfassenden Betrachtung zu kommen, wurde dann ein Maßsystem geschaffen, mit dessen Hilfe der Eiweißbestand und die Organgewichte verschiedener Tiere miteinander vergleichbar wurden. Die bereits früher bewährte Proportion Milligramm Organgewicht zu Gramm Körpergewicht (relatives Organgewicht) mußte nach Untersuchungen von SIESS und STEGMANN für das gesunde Tier relativ konstant sein. Ihre Gegenüberstellung mit Werten behandelter Tiere ermöglicht daher den Schluß, ob das Organ Veränderungen des Körpergewichtes proportional mitgemacht (Eutrophie bzw. Isoplasie) oder im Sinne einer absoluten und relativen Vergrößerung (Hypertrophie oder Hyperplasie) oder Verkleinerung (Atrophie) reagiert hat (GÖSSNER, SCHNEIDER, SIESS und STEGMANN). Für das behandelte Tier kann weiterhin mit Hilfe dieser Normalwerte, falls sein Körpergewicht vor Versuchsbeginn bekannt ist, das absolute Ausgangsgewicht seiner Organe annähernd berechnet werden. Damit ergibt sich die Möglichkeit, die Größenordnung der Organgewichtsveränderungen während des Versuches einigermaßen abzuschätzen. Allerdings muß betont werden, daß das relative Organgewicht nur dann eine verlässliche Größe ist, wenn das Tier kein allzu großes Fettpolster hat und sein Wachstum weitgehend abgeschlossen ist.

Für die Beurteilung des Eiweißbestandes ist der prozentuale Stickstoff- und Eiweißgehalt eines Organs (Gramm Eiweiß bzw. N je 100 g Frischgewicht) ein durchaus unzureichendes Maß. Der prozentuale Eiweißgehalt eines Organs kann sich in Gesundheit und Krankheit in relativ engen Grenzen halten (physiologisches Wachstum, selbst bei trüber Schwellung der Organe sind die Veränderungen unbedeutend), während das Organ als Ganzes beträchtlichen Größen- und Gewichtsveränderungen unterworfen ist. Wir haben deshalb in Anlehnung an den Begriff des „Eiweißgewichtes der Leber“ von TERBRÜGGEN das Ergebnis unserer

Organanalysen in Grammprozent mit dem jeweiligen relativen Organgewicht multipliziert und damit Faktoren erzielt, in die sowohl Veränderungen der prozentualen Organzusammensetzung wie auch des Gesamtgewichtes desselben einbezogen sind. Da diese Faktoren durch Hinzuziehung des relativen Organgewichtes auf die Körpergewichtseinheit 1 g standardisiert sind, eignen sie sich genau so wie das relative Organgewicht dazu, vergleichende Betrachtungen an Tieren verschiedenen Körpergewichts anzustellen. Auf diese Weise kommt man zu dem sog. Stickstoff-Faktor (N-Faktor) eines Organs, welcher besagt, wieviel Milligramm Gesamtstickstoff eines Organs auf 1 g Körpergewicht fallen. Der N-Faktor gibt über eiweißchemische Veränderungen innerhalb eines Organs keinen Aufschluß, sollte aber später einen Überblick über die Größenordnung der N-Verschiebungen unter der Dysproteinämie gestatten. Er wurde an Milz, Leber und Nieren bestimmt. Da die Leber als größtes Organ der Maus technisch eine Darstellung des Gesamteiweißes und der wasserlöslichen Eiweißkörper erlaubte, wurden für sie auch Faktoren für das Gesamteiweiß und die wasserlöslichen Eiweißkörper gebildet, die eine nähere Differenzierung der Organveränderungen erlauben. Auf die Angabe des prozentualen Gesamt-N-Gehaltes und bei der Leber auch des Eiweiß- und Rest-N-Gehaltes konnte trotzdem nicht verzichtet werden, da diese Größen die Dichte bzw. Auflockerung der N-haltigen Substanzen in den einzelnen Organen angeben. Mit ihrer Hilfe ließ sich prüfen, ob es im Gefolge dysproteinämischer Zustände zu einer echten cellulären Speicherung, d. h. Verdichtung der N-haltigen Substanzen im veränderten Organ kommt.

Methode und Tiermaterial.

Von insgesamt 110 weißen Mäusen, die eigener Aufzucht entstammten und einer amyloiderzeugenden Behandlung unterworfen wurden, dienten 15 männliche und 15 weibliche Tiere als Kontrollen. Sämtliche Tiere hatten ein Körpergewicht von 18—25 g. Die Kontrolltiere wurden wie die behandelten, über die später berichtet werden soll, vor der Tötung gewogen und die Untersuchung ihrer Organe völlig gleichartig durchgeführt.

Da an der Leber das wasserlösliche Eiweiß quantitativ bestimmt und näher charakterisiert werden sollte und auch für die übrigen Organanalysen ein starker Blutgehalt der Organe stören konnte, wurde die untere Körperhälfte der Tiere unmittelbar nach dem Tod von der linken Herzkammer aus mit Warmblüter-Ringerlösung durchspült. Dazu wurde das Tier mit Chloroform getötet, nach Eröffnung des Brustkorbes die Vena cava inferior kurz oberhalb des Zwerchfells durchtrennt und unter freiem Abfluß des Blutes eine an eine hochgestellte Auslaufflasche angeschlossene Kanüle (Kaliber Nr. 18) in den linken Ventrikel eingestochen. Bei einem Durchfluß von 40 Tropfen in der Minute gelang es innerhalb 3—5 min die Leber blutfrei zu spülen und auch eine weitgehende Blutleere in Milz und Nieren zu erzielen. Da ein zu starker Zufluß an Spülflüssigkeit zu einer Schwellung der Organe und damit Verfälschung der Organgewichte und Organanalysen führen konnte, war streng darauf zu achten, daß der Durchfluß 40 Tropfen in der Minute nicht überschritt und der linke Ventrikel keine übermäßige Dilatation als Zeichen

einer Überfüllung des Blutkreislaufes erfuhr. Eine vom Herzen ausgehende Durchspülung der Leber erschien den natürlichen Kreislaufverhältnissen besser angepaßt als eine Punktion der Pfortader. Mikroskopische Kontrollen ergaben dann auch eine einwandfreie Blutfreiheit der Leber ohne Schädigung des Parenchyms. Milz und Nieren enthielten teilweise noch etwas Blut, was bei der Vielgestaltigkeit ihres Gefäßsystems nicht verwunderlich erscheint. Die technischen Notwendigkeiten dieser Versuche ließen es nicht geraten erscheinen, vor der Tötung des Tieres zur Festlegung der individuellen Bluteiweißwerte noch eine Blutentnahme zu machen, so daß auf einen unmittelbaren Vergleich zwischen Organeiweiß und Bluteiweiß des Einzeltieres verzichtet werden mußte. Jedoch wird dieser Mangel durch den Vergleich größerer Kollektive aus immer gleichen Situationen ausgeglichen.

Nach der Durchspülung wurden die Organe sorgfältig freipräpariert, gewogen und aliquote einem Gesamt-N-Gehalt von 1–3 mg entsprechende Proben zur N-Bestimmung entnommen. Zur Bestimmung des relativen Gesamt-N-Gehaltes der Muskulatur wurde aus dem linken M. iliopsoas eine Probe entnommen. Da die Niere keinen einheitlichen Gewebsaufbau besitzt, wurde zur Darstellung ihres Gesamt-N-Gehaltes eine ganze Niere in heißer Schwefelsäure völlig aufgelöst und davon eine entsprechende Menge der N-Bestimmung nach KJELDAHL zugeführt. Eine ganze Niere bzw. kleinere Stückchen von Milz und Leber kamen zur histologischen Kontrolle (HE-, Fett- und Eisenfärbung) in Formollösung.

Für die Leber wurde der Gehalt an Gesamteiweiß, wasserlöslichem Eiweiß und nichtcoagulablem Stickstoff (Rest-N) ermittelt. Dazu wurde das restliche, genau abgewogene Lebergewebe unmittelbar nach der Durchspülung auf dem Gefriermikrotom in feinste etwa 15–30 μ dicke Schnitte zerkleinert und unter strenger Kontrolle der Mengenverhältnisse in 0,9%iger, auf Neutral-pH gepufferter Kochsalzlösung im Verhältnis 1 Teil Organgewebe + 4 Teile Extraktionsflüssigkeit aufgeschwemmt. Zur Verhinderung einer autolytischen bzw. bakteriellen Zersetzung war die Extraktionsflüssigkeit mit m/1000 KCN versetzt worden. Die Aufschwemmung kam sofort in den Kühlschrank. Erfahrungsgemäß bleiben unter diesen Kautelen Gewebsseiweißextrakte der Muskulatur längere Zeit nativ erhalten (HASSELBACH und SCHNEIDER). Trotzdem wurde die Extraktionsdauer auf 8 bis 10 Std beschränkt. Danach wurden die wasserlöslichen Eiweißkörper der Leber durch Zentrifugation in einem Schwerfeld von 25000 g bei Wasserkühlung von dem unlöslichen Sediment abgetrennt. Am serumklaren Extrakt, von dem gelegentlich vor dem Abkantieren eine feine häutchenartige Schicht aufgerahmter Fettsubstanzen abgesaugt werden mußte, wurde kjeldahlometrisch der Gehalt an Gesamt- und Reststickstoff (Filtrat einer Trichloressigsäurefällung) bestimmt und daraus sein Gesamteiweißgehalt errechnet. Sämtliche N-Analysen wurden in Doppelbestimmungen durchgeführt.

Aus den Ergebnissen der Gewichts- und Stickstoffbestimmungen an Leber, Milz, Nieren und Muskulatur wurden folgende Größen errechnet:

1. Das *relative Organgewicht* von Milz, Leber und Nieren:

$$R = \frac{\text{mg Frischgewicht}}{\text{g Körpergewicht}}$$

2. Der *prozentuale Gesamt-N-Gehalt* von Milz, Leber, Nieren und Muskulatur:

$$\text{g-\%} = \frac{\text{mg N der Probe}}{\text{mg Frischgewicht}} \times 100.$$

3. Der *N-Faktor* von Milz, Leber und Nieren als Beziehung des gesamten Organ-N zum Körpergewicht:

$$F_N = \frac{\text{relatives Organgewicht} \times \text{g-\% N-Gehalt}}{100}$$

Obwohl der N-Faktor der Muskulatur zur Klärung des Stoffumsatzes viel beizutragen hätte, mußte auf seine Bestimmung verzichtet werden, da das absolute Gesamtgewicht der Körpermuskulatur nicht zu ermitteln war. Damit fehlt der relative Gewichtsanteil der Muskulatur am Körpergewicht für die oben dargestellte Berechnung.

4. Für die Leber wurde an Hand der quantitativen Aufarbeitung und Analyse des Extraktes weiterhin festgestellt

a) der *prozentuale Gehalt* des Gewebes an *nichtcoagulablem Stickstoff*:

$$\text{mg-}\% \text{ Rest-N} = \frac{\text{mg Rest-N in 1 cm}^3 \text{ Extrakt} \times \text{cm}^3 \text{ Leberaufschwemmung}}{\text{mg extrahiertes Gewebe} \times \frac{1}{10^5}};$$

b) der *Gesamteiweißgehalt* in Grammprozent; rechnerisch ermittelt aus

$$(\text{g-}\% \text{ Gesamt-N} - \text{g-}\% \text{ Rest-N}) \times 6,25;$$

c) der Gehalt an *extrahierbarem Gesamtstickstoff* in Grammprozent:

$$\frac{\text{mg Gesamt-N in 1 cm}^3 \text{ Extrakt} \times \text{cm}^3 \text{ Aufschwemmung}}{\text{mg extrahiertes Organ} \times \frac{1}{100}};$$

d) der Gehalt an *wasserlöslichen Eiweißkörpern* in Grammprozent:

$$(\text{g-}\% \text{ extrahierbarer Gesamt-N} - \text{g-}\% \text{ Rest-N}) \times 6,25.$$

Um einen Überblick über die N-Zusammensetzung der Leber zu geben, wurde — wie dies bei Angaben der eiweißchemischen Zusammensetzung der Muskulatur (HASSELBACH und SCHNEIDER) üblich ist — der Anteil des nichtcoagulablen (Rest-)Stickstoffes, wasserlöslichen Eiweiß- und unlöslichen N der strukturierten Zellsubstanz in Prozenten des Gesamtstickstoffes ausgedrückt. Daraus ergibt sich für jedes Tier ein klares Bild des jeweiligen molekularen Gefüges der N-haltigen Substanz der Leber.

Ihr Gesamt-N setzt sich unter Verwendung von 4a und 4d zusammen aus

$$x \% \text{ Rest-N} = \frac{\text{mg-}\% \text{ Rest-N der Leber}}{\text{g-}\% \text{ Gesamt-N der Leber} \times 10},$$

y % wasserlösliches Eiweiß der Leber:

$$\frac{\text{g-}\% \text{ löslicher Lebereiweiß-N} \times 100}{\text{g-}\% \text{ Gesamt-N der Leber}},$$

z % unlöslicher Eiweiß-N der strukturierten Zellsubstanz = $100 - (x + y)$.

In ähnlicher Weise wie für den Gesamtstickstoff von Leber, Milz und Nieren wurden auch für die Lebereiweißkörper Faktoren gebildet, die sich auf das Körpergewicht beziehen. Diese Faktoren sollen besagen, wieviel Milligramm Gesamteiweiß bzw. wasserlösliches Eiweiß der Leber auf 1 g Körpergewicht entfallen. Damit ergibt sich wiederum die Möglichkeit zu einem Vergleich von Tieren unterschiedlichen Körpergewichtes.

Ergebnisse.

Bei 30 gesunden weißen Mäusen mit einem Körpergewicht von 17,3 bis 24,8 g fanden sich nach Spülung der Leber folgende absoluten Organgewichte in Milligramm:

	Milz	Leber	Nieren
15 Männchen	64—109	800—1100	250—320
15 Weibchen	66—121	680—1050	161—271

Werden nun für jedes Tier aus dem Körpergewicht und absoluten Organ-
gewicht die relativen Organgewichte berechnet, so ergeben sich die in
Tabelle 1 dargestellten Einzel- und Mittelwerte, wobei für den Mittelwert
auch die einfache Streuung angegeben ist.

Verglichen mit früheren Beobachtungen, die sich für die Leber auf
120 Tiere, für die Milz auf 79 und die Nieren auf 10 Tiere beziehen, zeigt

Tabelle 1. *Relatives Organgewicht von Milz, Leber und Nieren in mg/g.*

	Milz		Leber	
	Einzelwerte	Mittelwert	Einzelwerte	Mittelwert
15 ♂♂	2,82—4,75	$3,9 \pm 0,517$	36,0—51,0	$41,96 \pm 3,71$
15 ♀♀	3,28—5,58	$4,4 \pm 0,746$	36,0—50,5	$43,1 \pm 4,34$
30 Tiere insgesamt		$4,12 \pm 0,685$		$42,53 \pm 3,97$

	Nieren	
	Einzelwerte	Mittelwert
15 ♂♂	10,4—13,8	$12,4 \pm 1,233$
15 ♀♀	8,6—12,4	$9,67 \pm 0,830$
30 Tiere insgesamt		$11,05 \pm 1,731$

es sich, daß die hier aufgeführten Mittelwerte des relativen Milz-, Leber-
und Nierengewichtes im wesentlichen den früheren Beobachtungen ent-
sprechen und noch in die errechnete Mittelwertsstreuung fallen. So
ergaben die Gewichtsbestimmungen von SIESS und STEGMANN für
120 Lebern gesunder Tiere mit einem Körpergewicht von 5—28 g den
Mittelwert 45,8 mit einer einfachen Streuung von $\pm 4,5$; eiweißgefütterte
Tiere (Fütterung mit Pferdeblutplasma und Casein) hatten etwas höhere
Werte ($50,8 \pm 4,69$ bzw. $48,1 \pm 5,1$). Für die Milz fanden sich früher
etwas höhere Mittelwerte. 56 Tiere hatten ein mittleres relatives Milz-
gewicht von $5,1 \pm 1,3$ (GÖSSNER, SCHNEIDER, SIESS und STEGMANN)
und 23 für die Charakterisierung der Serumeiweißveränderungen ver-
wendete Kontrolltiere (OTT und SCHNEIDER) wiesen einen Mittelwert
von 5,3 mg/g auf. Die Nierengewichte lagen bei 10 Kontrolltieren beider-
lei Geschlechts (Cortisonversuche von SCHNEIDER) mit einem Mittelwert
von $12,2 \pm 1,25$ dem hier an 30 Tieren ermittelten Wert sehr nahe.
Lediglich die etwas größere Differenz der relativen Milzgewichte könnte
als echte Abweichung imponieren. Man muß allerdings bei jedem dieser
Vergleiche berücksichtigen, daß die früher ermittelten Werte von Tieren
stammen, deren Organe nicht blutfrei gespült wurden. Es ist deshalb
nicht ausgeschlossen, daß das geringere Milzgewicht Folge eines ver-
minderten Blutgehaltes ist. Gerade für die Milz erscheint die Möglichkeit
eines Gewichtsverlustes durch Entleerung ihrer Blutspeicher gegeben.

Wesentlich erscheint die Tatsache, daß trotz der Durchspülung der Organe in keinem Fall das relative Organgewicht zugenommen hat. Es kann daraus geschlossen werden, daß die Durchströmung das Gewicht der Organe nicht wesentlich verändert hat.

Wie bereits SIESS und STEGMANN zeigten, besteht nur innerhalb bestimmter Körpergewichtsklassen (5–28 g) eine Konstanz der relativen Lebergewichte. Wir fanden bei einem 27,4 g schweren Männchen Werte, die an der unteren Grenze der oben mitgeteilten Mittelwerte liegen (Milz 3,77 mg/g, Leber 39,2 mg/g und Nieren 11,1 mg/g), und hatten bei schwereren Tieren den Eindruck, daß mit einem höheren Körpergewicht das Fettpolster beträchtlich zunimmt und damit als ein in das Stoffwechselgeschehen nicht voll einbezogener Körperbestandteil das relative Organgewicht herabsetzt. Das Organgewicht nimmt also oberhalb einer bestimmten Körpergewichtsgrenze, vorausgesetzt, daß das normalgewichtige Tier nicht schon sehr fettreich ist, an einer Vergrößerung des Körpergewichts nicht mehr teil. Für die Nieren zeigt der Mittelwert und seine Streubreite bei beiden Geschlechtern, daß das Weibchen im allgemeinen kleinere Nieren besitzt. Bilden wir aus der Streuung $\sigma = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}}$ und dem Mittelwert \bar{x} mit der Formel $V = \left(\frac{\sigma}{\bar{x}}\right) \times 100\%$ den Variationskoeffizienten:

$$\begin{aligned} V \text{ für das relative Milzgewicht} &= 16,9\% \\ \text{für das relative Lebergewicht} &= 9,3\% \\ \text{für das relative Nierengewicht} &= 15,6\% \end{aligned}$$

so verhält sich die Leber bezüglich ihres relativen Organgewichtes am einheitlichsten. Es besteht für die Leber der ausgewachsenen, nicht über 28 g schweren Maus eine strenge Proportion zwischen Organgewicht und Körpergewicht.

Diese Feststellung gilt nach KRAFT und STICKL auch für die Ratte, allerdings mit der Einschränkung, daß hier die strenge Proportionalität schon bei niedrigeren Gewichtsklassen verlorengeht. So erreicht die Ratte bereits bei einem Körpergewicht von 200–220 g und einem Lebergewicht von 6000–8000 mg diese als „kritisches Lebergewicht“ bezeichnete Grenze. Quantitativ-morphologisch hat die Bestimmung der Leberzellzahl ergeben, daß bei solchen Lebern die für das physiologische Leberwachstum typische „dynamische Leberzellzahlkonstanz“ (SIESS und STEGMANN) nicht mehr gewahrt bleibt und jede weitere Lebergewichtszunahme nunmehr auf Kosten einer Zellvermehrung, also Hyperplasie, geht.

Der Vergleich von Ratte und Maus macht es wahrscheinlich, daß bei gesunden Tieren das kritische Lebergewicht um so früher erreicht wird, je größer die Tiergattung ist. Für die Maus fanden wir innerhalb normaler Gewichtsklassen eine Überschreitung des kritischen Lebergewichtes nur unter pathologischen Verhältnissen (GÖSSNER, SCHNEIDER, SIESS und STEGMANN). Da die physiologische Grenze für dieses Tier mit einem

Körpergewicht von 28 g und einem Lebergewicht von 1400 mg sehr hoch liegt, erscheint der Schluß erlaubt, daß bei ihr das Stoffwechselgeschehen der Leber ziemlich streng auf die Größe des Organismus eingestellt ist.

Die stärkere Streuung des relativen Milzgewichtes ist durch die rasch wandelbare Reaktionslage des lymphatischen Systems bedingt. Sicherlich konnten nicht in jedem Fall bei der Aufzucht der Tiere banale Infekte vollständig ausgeschlossen werden. Auch könnte eine unterschiedliche Blutfülle zum Zeitpunkt des Todes eine Rolle spielen. Der ebenfalls größere Variationskoeffizient der Nierengewichte ist eine Folge der unterschiedlichen Nierengröße bei beiden Geschlechtern. Wir haben nach Geschlechtern getrennt den Variationskoeffizienten als Maß der Streugröße berechnet und für beide Geschlechter mit

V-Nierengewichte bei ♂♂ = 9,9%

V-Nierengewichte bei ♀♀ = 8,5%

ähnliche Werte wie für die Leber gefunden, so daß auch für dieses Organ das oben Gesagte gelten kann.

Der *prozentuale Gesamt-N-Gehalt* wurde an Milz, Leber, Nieren und Muskulatur bestimmt (Tabelle 2). Erstaunlicherweise lag er sowohl für

Tabelle 2. *Gesamtstickstoffgehalt der Organe und Gewebe in g-%.*

a Einzelwerte, M Mittelwert.

Milz		Leber		Nieren		Muskulatur	
a	M	a	M	a	M	a	M
2,58—3,34	2,98	2,47—3,30	2,98	2,55—3,32	2,84	2,85—3,37	3,05

die einzelnen Organe als auch für beide Geschlechter in sehr engen Grenzen. Es ergibt sich kein Anhalt für eine physiologischerweise ablaufende Speicherung bzw. Entspeicherung bestimmter Organe. Nach den Mittelwerten zu urteilen, ist die Muskulatur das N-reichste Parenchym, was uns später noch interessieren wird. In knappem Abstand folgen Leber, Milz und Nieren. Im ganzen ist der Gehalt an Gesamtstickstoff in den Geweben etwa das Dreifache desjenigen des strömenden Plasmaproteins. Für die Maus kann man bei einem Serum-Gesamteiweißgehalt von 6—7 g-% rund 1 g-% Gesamtstickstoff ansetzen.

Um quantitativ eine Vorstellung von der Größe des *Gesamtstickstoffbestandes* der einzelnen Organe zu geben und als Grundlage für die späteren Stoffwechselbetrachtungen, wurde der oben erläuterte N-Faktor für die einzelnen Organe errechnet. Tabelle 3 gibt den Organ-N-Bestand gesunder Tiere in Milligramm Organstickstoff je Gramm Körpergewicht wieder.

Die Leber stellt als größtes parenchymatöses Organ auch den größten N-Faktor und besitzt als das stoffwechselkonstanteste Organ auch die kleinste Streuung seines Variationskoeffizienten. Nieren- und Milz-

streuung sind gegenüber der Streuung ihres relativen Organgewichtes hier sogar größer geworden, also muß der prozentuale N-Gehalt dieser Organe schon im Gesunden größeren Schwankungen unterworfen sein. Im ganzen beweist die offensichtlich enge Übereinstimmung der Variationskoeffizienten auf S. 349 und in Tabelle 3 die bereits oben erwähnte geringe Variation der N-Dichte dieser Organe.

Tabelle 3.

Stickstoff-Faktor von Leber, Milz und Nieren als mg Organgesamt-N/g Körpergewicht.

	Einzelwerte	Mittelwert	Variationskoeffizient
Milz . . .	0,085—0,163	$0,125 \pm 0,0228$	18,2
Leber . . .	0,95 —1,50	$1,265 \pm 0,133$	10,5
Nieren . . .	0,244—0,410	$0,314 \pm 0,512$	16,3

Im ganzen kann der Schluß gezogen werden, daß das Organgewicht den Gewichtsschwankungen gesunder Tiere proportional folgt, *ohne* daß sich der prozentuale Gesamt-N-Gehalt dieser Organe *wesentlich ändert*. Leber und Nieren werden also bei Steigerung des Körpergewichts unter *proportionalem* Einbau N-haltiger Substanzen schwerer.

Für die *Leber* haben wir durch die quantitativ geführte Extraktion ihrer wasserlöslichen Bestandteile den Gesamtstickstoff noch näher in sog. Rest-N (nichtkoagulable niedermolekulare N-haltige Bestandteile), Gesamteiweiß und wasserlösliches Eiweiß aufgegliedert. Es wurden dazu 20 Normaltiere beiderlei Geschlechts verwendet. Bei einem Gesamt-N-Gehalt von durchschnittlich 2,94 g-% fand sich ein Gehalt an

	Einzelwerte	Mittelwert
Rest-N in mg-%	123,0 —220,0	166,5
Gesamteiweiß in g-%	14,2 — 19,0	16,38
Lösliches Eiweiß in g-%	8,55— 12,0	9,75

Werden diese Größen als prozentuale Anteile am Gesamtstickstoff ausgedrückt, so ergibt sich nach Tabelle 4, daß die Leber gegenüber dem

Tabelle 4. *Prozentuale Zusammensetzung des Leber-Gesamtstickstoffes.*

	Einzelwerte	Mittelwert	Variationskoeffizient
Rest-N	4,4— 8,5	$6,42 \pm 1,235$	19,5
Löslicher Eiweiß-N	46,7—70,0	$57,9 \pm 7,024$	12,1
Unlöslicher Eiweiß-N	24,2—49,0	35,68 —	—

strömenden Blut, dessen Rest-N etwa 4% des Gesamt-N ausmacht, einen etwa 1,5mal höheren relativen Gehalt an nichtcoagulablem Stickstoff hat. Die Konzentration des Leber-Rest-N beträgt rund das Vierfache des Blut-Rest-N, da wir in einem Mäusesammelplasma 40 mg-% Rest-N feststellen konnten. Die unlöslichen, vor allem aus der

Kernsubstanz, den übrigen corpusculären Anteilen des Cytoplasma und dem Bindegewebsstroma der Gefäße und periportalen Felder samt Gallenwegen bestehenden Eiweißteile machen rund $\frac{1}{2}$ des Gesamtstickstoffes aus. Entgegen früheren Angaben (BLEYER und BERGER) über den Anteil des leichtlöslichen cytoplasmatischen Eiweißes konnte mit unserem Verfahren mit etwa 60% des Gesamtleberstickstoffes ein sehr hoher Anteil des Eiweißes in nativem Zustand als serumklarer Extrakt gewonnen werden. Wie der Variationskoeffizient andeutet, ist die Streuung des Rest-N-Anteiles mit 19,5% erheblich größer als die des löslichen Eiweißes. Dies weist für den Rest-N auf eine erhebliche Abhängigkeit vom laufenden Stoffwechsel hin.

Nach diesem Überblick über die eiweißchemische Zusammensetzung der Leber ist kurz auf die Histologie einzugehen. Die Lebern dieser Tiergruppe zeigen ein sehr einheitliches Bild. Die Durchspülung mit Ringerlösung hat zur völligen Blutfreiheit des gesamten Gefäßsystems geführt. Gegenüber der nicht durchspülten Leber kommen die Zentralvenen etwas deutlicher zur Darstellung, ohne daß indessen die Läppchen-capillaren erweitert erscheinen. Gelegentlich sind die Leberzellbalken im Läppchenzentrum etwas geringer färbbar, jedoch ist kein Zellödem und sind keine auffälligen Cytoplasmastrukturen sichtbar. Hinsichtlich ihrer Größe sind die Zellen und Kerne einheitlich, doppelkernige Leberzellen relativ selten, Riesenzellen und Mitosen nicht nachweisbar. Die überwiegende Zahl der Kerne ist mittelgroß und zeigt ein feines Chromatingerüst mit meist mehreren exzentrisch liegenden Kernkörperchen bzw. vereinzelt Randkörperchen, die deutliche Basophilie besitzen. Das Cytoplasma ist meist recht dicht und fein gekörnt, stärkere cytoplasmatische Basophilie tritt nur in wenigen Zellen zutage, Verfettung ist in keinem Fall nachweisbar. Die nur undeutlich hervortretenden GLISSONschen Scheiden sind zellarm, desgleichen die Capillarendothelien nicht vermehrt, mesenchymale Proliferationsherde nicht vorhanden. Keine Hämosiderinablagerung in Leberparenchym und Endothelien. Es zeigt sich damit gegenüber den früher an nicht durchspülten Lebern erhobenen Befunden (GÖSSNER, SCHNEIDER, SIESS und STEGMANN) ein unverändertes Bild. Die Durchspülung hat das Parenchym nicht in nennenswerter Weise beeinflußt.

Als Grundlage für die folgenden Stoffwechselbetrachtungen an dysproteinämischen Tieren haben wir noch die für die gesunde Leber geltenden Faktoren des Lebergesamteiweißes und des löslichen Lebereiweißes errechnet, welche — wie schon oben erwähnt — Ausdruck der Beziehung von Milligramm Leberbestandteil zu Gramm Körpergewicht sind (Tabelle 5). Eine stärkere Streuung der Mittelwertsschwankung und ein größerer Variationskoeffizient für das wasserlösliche Lebereiweiß zeigt an, daß dieser Bestandteil größeren Schwankungen als das Lebergesamteiweiß unterworfen ist. Daraus darf vielleicht geschlossen werden, daß

Tabelle 5. *Faktoren des Gesamteiweißes und löslichen Eiweißes der Leber*
(mg Organeiweiß/g Körpergewicht).

	Einzelwerte	Mittelwert	Variations- koeffizient
Gsamteiweiß	5,83—8,58	$7,29 \pm 0,732$	10,0
Wasserlösliches Eiweiß	3,40—5,55	$4,98 \pm 0,832$	16,7

das lösliche Eiweiß vorwiegend die rasch disponible Form für den Bedarf im Stoffwechsel darstellt. Ferner kann aus den Werten der Tabelle 4 und 5 geschlossen werden, daß der nichtcoagulable Stickstoffanteil der Leber den größten stoffwechselbedingten Schwankungen unterliegt und als nächster etwas weniger stark wandelbarer Bestandteil das wasserlösliche Lebereiweiß folgt. Trotz dieser Dynamik seiner Einzelbestandteile bleibt der Leber-Gesamtstickstoff sehr stabil. Damit dürften die wesentlichen Stoffaustauschvorgänge auf dem Eiweißstoffwechselsektor der Leber den nichtcoagulablen Stickstoff und das wasserlösliche Eiweiß betreffen. Wahrscheinlich ist es gerade die große Löslichkeit dieser Komponenten, die ihnen ihre Sonderstellung einräumt.

Fassen wir die Befunde am gesunden Tier zusammen, so ergibt sich, daß in bestimmten Größenklassen die relativen Organgewichte sehr konstant sind und die Leber den geringsten Schwankungen unterworfen ist. Der prozentuale Gesamt-N-Gehalt hält sich für Leber, Milz und Nieren in engen Grenzen. Die Muskulatur stellt das N-reichste Parenchym dar. Auf das Körpergewicht bezogene Faktoren, wie der des Gesamtstickstoffes und im Falle der Leber auch des Gesamteiweißes, streuen in derselben Größenordnung wie die relativen Organgewichte. Lediglich der Faktor des wasserlöslichen Lebereiweißes, das etwa 60% des Lebergesamteiweißes ausmacht, variiert stärker. Der nichtcoagulable Stickstoff, von dem die Leber im Mittel rund 160 mg-% oder 6% ihres Gesamtstickstoffes enthält, ist ähnlichen wahrscheinlich stoffwechselbedingten Schwankungen unterworfen. Im ganzen besitzt keine der dargestellten Größen einen Variationskoeffizienten über 20%. Demnach erscheinen die am gesunden Tier gewonnenen Daten als Grundlage für Organanalysen am dysproteinämischen Tier geeignet.

Literatur.

BLEYER, LEO, u. W. BERGER: Z. exper. Med. **43**, 58 (1924). — GÖSSNER, WOLFGANG, G. SCHNEIDER, M. SIESS u. H. STEGMANN: Virchows Arch. **320**, 326 (1951). — HASSELBACH, WILLY, u. G. SCHNEIDER: Biochem. Z. **321**, 462 (1951). — KRAFT, E., u. H. STICKL: Virchows Arch. **324**, 650 (1954). — OTT, HANS, u. G. SCHNEIDER: Z. exper. Med. **116**, 545 (1951). — SCHNEIDER, GERHARD: Verh. der Dtsch. Ges. für Path. 36. Tagg, S. 178. 1952. — SIESS, MANFRED, u. H. STEGMANN: Virchows Arch. **318**, 534 (1950). — TERBRÜGGEN, A.: Verh. der Dtsch. Ges. für Path. 30. Tagg, S. 171. 1937.

Dr. GERHARD SCHNEIDER, Pathologisches Institut der Universität Tübingen.