

Ueber den Bence-Jones'schen Eiweisskörper.

Von

Adolf Magnus-Levy,

Assistent der medicin. Klinik in Strassburg.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge Nr. 37.)

(Der Redaction zugegangen am 20. Juni 1900.)

Im Jahre 1847 entdeckte Bence-Jones*¹⁾ im Urine eines von Mac-Intyre behandelten Patienten einen eigenthümlichen Eiweisskörper. Dieser unterschied sich von den gewöhnlich im Harne vorkommenden dadurch, dass der beim Erwärmen des Urins entstandene Niederschlag sich beim Kochen löste, um beim Erkalten wieder aufzutreten. Beim Erhitzen auf 100° ging der Niederschlag abermals in Lösung u. s. w. Auch die durch Salpeter- oder Salzsäure bei Zimmertemperatur erhaltenen Fällungen verschwanden bei 100°. Im Uebrigen zeigte der Körper nach verschiedenen Reactionen (Biuretreaction) und Elementaranalyse die Eigenschaften und Zusammensetzung der Eiweisskörper. — Erst in den achtziger Jahren wurde diese Substanz von neuem beschrieben. Kühne²⁾ publicirte 1880 seine Untersuchungen über jenen eigenthümlichen Harnkörper, den er schon 13 Jahre vorher aus dem Urine eines von M. Doornik (Stokvis) behandelten Patienten isolirt hatte. Es gelang ihm, jene Substanz «ihrer gänzlichen Beziehungslosigkeit im Systeme der Eiweisskörper zu entkleiden». Sie wies eine so weit gehende Aehnlichkeit mit der damals von ihm aus den Verdauungsprodukten des Eiweisses isolirten «Hemialbumose» auf, dass Kühne sie als dieser auf das Nächste verwandt ansprechen konnte. Seit jener Zeit spricht man von einer (Bence-Jones'schen) «Hemialbumosurie».

*) Siehe Litteraturverzeichniss im Anhang.

Die Aufklärung der nosologischen Bedeutung, der klinischen Stellung des seltenen Körpers ging aus der Feder jenes Autors hervor, der den dritten Fall zusammen mit Huppert im Jahre 1888 beschrieb, aus der Feder Kahlers.³⁾ Er fand bei der Section eines Patienten, der den mit so auffallenden Eigenschaften begabten Eiweisskörper im Harn ausgeschieden hatte, zahlreiche Myelome im Mark der Rippen; er hielt sich für berechtigt, zugleich im Hinblick auf die zwei früheren, anatomisch und klinisch freilich nicht so genau differenzirten Fälle, einen Zusammenhang zwischen der «Hemi-albumosurie» und dem Auftreten der Myelome in den Rippen aufzustellen.

In den neunziger Jahren, namentlich in der zweiten Hälfte derselben, haben sich die Beobachtungen rasch gemehrt. Stokvis-Ribbink-Zeehuysen,⁴⁾ Matthes-Neumeister-Seegelken,⁵⁾ Rosin-Süssmann,⁶⁾ Ellinger⁷⁾ brachten ausführlichere Untersuchungen namentlich über die chemische Natur des Eiweisskörpers, Bozzolo,⁸⁾ Naunyn,⁹⁾ Sternberg,¹⁰⁾ Bradshaw,¹¹⁾ Askanazy,¹²⁾ Fitz^{12a)} kürzere Mittheilungen. Die von Kühne und Kahler aufgestellten Gesichtspunkte haben sich bisher im Wesentlichen als zutreffend erwiesen. Sämmtliche Autoren erkannten die Stellung des Körpers in der Gruppe der Albumosen als richtig an, wenn sie dieselbe auch nicht, wie Kühne und Huppert, mit einer bestimmten Verdauungsalbumose identifizirten. (Die Resultate der chemischen Untersuchungen und die Deutungen der einzelnen Autoren werden weiter unten besprochen.) In allen neueren Fällen, soweit sie zur Autopsie kamen, wurden auch bisher Myelome im Knochenmark gefunden. Askanazy's Beobachtung steht mit den bisherigen nicht in Widerspruch; sie zeigte, dass das Erscheinen des Bence-Jones'schen Körpers nicht ausschliesslich an jene Fälle gebunden ist, in denen die Lymphome circumscript, als Myelome und nur im Knochenmark auftreten; in seinem Falle war es zu einer «lymphadenoiden Degeneration»*)

*) Man kann diese mit Pappenheim,²⁴⁾ der in seiner Arbeit über Lymphaemie vielfach die Anschauungen Neumann's vertritt, als diffus gewordene Lymphome auffassen. — Zwar zeigen die circumscripten Lymphome, die «Myelome», im Gegensatz zu den leukämischen Ver-

des Knochenmarks, zu allgemeiner Lymphomatosis und zu Leukämie gekommen. Da, wo die Section fehlte, wiesen die klinischen Erscheinungen mit Sicherheit auf ein schweres Knochenleiden hin. Nur in dem Fitz'schen Falle bleibt ein solches zweifelhaft. Die spärlichen Notizen (Schmerzen in den Schultern und Steifigkeit in den Gliedern) berechtigen nicht zu weittragenden Schlüssen. Eine Autopsie fand nicht statt. Die Harnalbumose wurde von Fitz zwar nicht eingehend untersucht, zeigte aber doch die wesentlichen und charakteristischen Eigenschaften des Bence-Jones'schen Körpers.

Prof. Naunyn überwies mir im Mai 1898 den Urin der von ihm behandelten Patientin, die an multiplen Knochenaufreibungen*) und «Bence-Jones'scher Albumosurie» litt, zur eingehenderen Verarbeitung, die ich unter Leitung von Prof. Hofmeister durchführte. Die Ergebnisse der Untersuchung und die Deutung, die ich nach denselben dem Bence-Jones'schen Eiweisskörper geben muss, weichen nicht unerheblich von den bisherigen ab, so dass eine genauere Mittheilung der chemischen Untersuchung angezeigt scheint. (Eine ausführliche klinische Mittheilung des Falles hat sich Prof. Naunyn vorbehalten.)

Ich erhielt reichliche Quantitäten des Urins aus verschiedenen Terminen des Krankheitsverlaufes innerhalb achtzehn Monaten durch die Vermittelung des die Patientin behandelnden Arztes, Dr. Koechlin in Mülhausen, dem ich für diese Unterstützung zu bestem Danke verpflichtet bin. Der Urin gelangte in der kalten Jahreszeit ohne Conservierungsmittel, später mit Chloroform oder Thymol versetzt, an das Institut. Er war meist sauer, dunkel gefärbt, nur selten etwas trüb, vom specifischen Gewicht 1021—1026; im Sediment fanden sich zeitweise Gypskrystalle und, übrigens in sparsamer Menge, globulitenartige Ausscheidungen des Eiweisskörpers, wie solche auch von Kühne und Rosin beschrieben sind; von geformten Bestandtheilen gelegentlich Plattenepithelien. Auffallend gering

änderungen des Knochenmarks die Eigenschaft der Bösartigkeit, sie bringen das Knochengewebe zum Schwund; ob man daraus in all-gemeinpathologischer Hinsicht prinzipielle Unterschiede herleiten darf, lasse ich unerörtert.

*) Eine Section konnte nicht gemacht werden.

war seine Neigung zur Fäulniss, auch wenn keine gährungs-hemmenden Mittel zugefügt waren.

Der Harn enthielt den Bence-Jones'schen Eiweisskörper in grosser Menge bis zum Tode der Patientin. Seine Menge, bestimmt durch Wägung des Alkoholniederschlags (unter Abzug der Asche) oder durch Ermittlung des Stickstoffgehaltes der Tanninfällung (nach Girgensohn), betrug zu verschiedenen Zeiten 2,4; 2,4; 1,85; 2,0; 2,1; 1,6; 1,85 %₀. Der Gehalt war somit im Anfang etwas höher als später. Die Urinmenge soll nach den Angaben des Arztes in der ersten Zeit gegen 1¹/₂, später nur etwa 1 Liter betragen haben; somit wären im Anfang täglich gegen 36 g, später nur 18–20 g des Bence-Jones'schen Körpers zur Ausscheidung gelangt. In der Tagesmenge fanden sich bei zwei Bestimmungen in der ersten Zeit rund 16 g Stickstoff, von denen über ein Drittel (5,6 g) in Form von Eiweiss enthalten war.

Ich beschreibe im Folgenden: 1. die Reactionen des Eiweisskörpers im Urin, 2. die Methoden der Reindarstellung, die Gewinnung in krystallisirtem Zustand und die Eigenschaften des gereinigten Körpers, 3. die Resultate der Pepsinverdauung; ich gebe dann 4. den Vergleich meines Eiweisskörpers mit den von früheren Autoren beschriebenen und 5. die aus den Beobachtungen folgenden Schlüsse über die Natur des Bence-Jones'schen Körpers und seine Stellung im System der Eiweisskörper, 6. Bemerkungen über Herkunft und Bildungsstätte des Körpers.

I. Reactionen des Eiweisskörpers im Urin.

Ich fasse dieselben in folgender tabellarischer Uebersicht zusammen.

Tabelle I.

Reaktionen des Eiweisskörpers im Urin.

1. Erwärmen:	Ausfällung bei 60—65°, theilweise Klärung bei 75—100°. Beim Abkühlen tritt stärkere Trübung auf.
2. Salpetersäure (25 % ₀):	Ausfällung in der Kälte. In der Siedehitze theilweise löslich. Beim Abkühlen Verstärkung des Niederschlags.

- | | |
|---|--|
| 3. Salzsäure (12½%): | Wie HNO ₃ . |
| 4. Essigsäure (30%): | Kein Niederschlag; nach genügendem Zusatz auch nicht in der Wärme. |
| 5. Kohlensäure: | Kein Niederschlag beim Einleiten in den aufs 10fache verdünnten Urin. |
| 6. Neutralisation mit NaOH oder NH ₃ : | Keine Fällung. |
| 7. Neutralisation nach reichlichem Zusatz von NaOH oder Essigsäure: | Reichliches Neutralisationspräcipitat. |
| 8. Millon's Reaction: | Schöne Rothfärbung der Flocken beim Erhitzen. |
| 9. Biuretreaction: | Rothviolettffärbung. |
| 10. Kalilauge und Bleiacetat: | Starke Braunfärbung beim Kochen. |
| 11. Alkohol: | Völlige Ausfällung durch 2 Volumentheile 96% Alkohols. Der Niederschlag wird nach kürzerer oder längerer Zeit unlöslich. |
| 12. Tannin u. Essigsäure: | Starker Niederschlag, bei 100° nur in Spuren löslich. |
| 13. Pikrinsäure: | Starker Niederschlag, bei 100° nur in Spuren löslich. |
| 14. Essigsäure - Ferrocyankalium: | Geringer Niederschlag, viel stärker im verdünnten Urin; löst sich beim Kochen zum Theil und erscheint beim Erkalten wieder. |
| 15. Kochsalz: | Zusatz von 2 Volumen gesättigter NaCl-Lösung, keine Trübung. Aussalzen mit Steinsalz bei 15—20°: geringe Fällung, in Wasser löslich. Aussalzen mit Steinsalz bei 37°: vollständige Ausfällung; diese ist in H ₂ O nicht mehr löslich. |
| 16. Essigsäure u. concentrirte Kochsalzlösung: | Vollständige Ausfällung. |
| 17. Magnesiumsulfat: | Sättigung bei Zimmertemperatur; keine Fällung. |
| 18. Ammoniumsulfat: | Vollständige Ausfällung bei Zusatz von 2 Volumina gesättigter Ammonsulfatlösung. |
| 19. Dialyse: | Der Körper dialysirt nicht, scheidet sich auch bei tagelangem Dialysiren nicht aus. |

Eine Reihe dieser Reactionen erfordert eine eingehendere Beschreibung.

Zu 1. Verhalten beim Erwärmen. Bei langsamen Erwärmen beginnt der Urin sich bei etwa 50° milchig zu trüben, die Trübung nimmt dann zu und zeigt bei etwa 60—65° in einer massenhaften flockigen Ausscheidung ihr Maximum.

Bei höherer Temperatur (70°) beginnt eine deutliche Aufhellung, und beim Siedepunkt ist ein grosser Theil des Niederschlages wieder in Lösung gegangen; doch bleiben nicht unerhebliche Reste des Körpers in groben, sehr zähen Massen ausgeschieden, die leicht an der Gefässwand, sowie am Glasstabe haften und sich wie Fibrinfäden lang ausziehen lassen. Beim Erkalten trübt sich die Flüssigkeit stark, der so entstandene Niederschlag löst sich beim Erhitzen bis zum Sieden wieder nur zum Theil u. s. w. Je öfter man dieses wiederholte, um so geringere Mengen des Eiweisskörpers blieben in der siedenden Flüssigkeit gelöst, und so gelang es auf diese Weise, den Körper successive bis auf die letzte Spur auszuscheiden. Filtrirt man den Urin nach dem erstmaligen Erhitzen auf 100° durch ein auf dieser Temperatur gehaltenes dichtes Filter, so trüben sich beim Erkalten nur die ersten Antheile des Filtrats, während die letzten eiweissfrei sind; die Poren des Papiere verstopfen sich offenbar ziemlich schnell. Eine vollständige Klärung des Urins beim Erhitzen auf 100° , wie sie einzelne frühere Autoren sahen, wurde nie erzielt, auch dann nicht, als der Harn auf das Fünf- und Mehrfache verdünnt wurde. — Bei den aus späteren Zeiten stammenden Urinen wurde der Antheil des beim erstmaligen Erhitzen auf 100° nicht mehr in Lösung gehenden Niederschlags immer grösser, doch konnte zumeist eine theilweise Klärung und eine erneute Trübung beim Abkühlen beobachtet werden, sobald man den Urin in gewöhnlicher Weise auf der Flamme erwärmte.*) — Auf eine einfache Weise aber

*) Urin, der, ein Jahr über Chloroform aufbewahrt, seine saure Reaction bewahrt hatte, zeigte dasselbe Verhalten wie der frische. Nur war die Löslichkeit des Körpers in der Hitze (mit oder ohne Zusatz von Reagentien) noch geringer geworden als früher. Die durch Erwärmen bei $60-65^{\circ}$ erzielte dickflockige Ausfällung fängt bei 70° an sich zusammenzuziehen, dann zu schmelzen, bei 86° enthält der völlig geklärte Urin am Boden einen compacten Niederschlag, und nur geringe Eiweissreste bleiben in Lösung.

Eine im October 1899 erhaltene Urinprobe liess weder bei ammoniakalischer Reaction (Zersetzung des Urins), noch auch nach dem Neutralisiren eine deutliche Klärung beim Erhitzen auf 100° erkennen, trotzdem der Harn auch jetzt noch $1\frac{1}{2}\%$ des Bence-Jones'schen

gelang es, den Körper quantitativ in der Hitze schon beim erstmaligen Erwärmen auszuschleiden. Ich verdünnte 10 ccm. Urin mit 40 ccm. Wasser im langhalsigen Kjeldahl-Kolben und erwärmte langsam auf dem Wasserbad; nun schied sich der gesammte Eiweisskörper als zäher Niederschlag, fest an den Wänden haftend, aus und ging auch beim Erhitzen über freier Flamme nicht mehr, selbst nicht in Spuren, in Lösung. Die klare überstehende Flüssigkeit konnte einfach quantitativ abgegossen werden und enthielt auch nicht die mindeste Spur des Eiweisskörpers; der Stickstoffgehalt des an den Glaswänden festklebenden, gut ausgewaschenen Niederschlages stimmte genau mit dem des durch die Tanninfällung im Urin erhaltenen überein. — Je langsamer der Urin erwärmt wird, desto vollständiger ist die Ausfällung bei 100°.

In der ersten Zeit der Untersuchungen musste das soeben geschilderte Verhalten der nur theilweisen Löslichkeit des Körpers bei 100° den Anschein erwecken, als seien im Urin zwei Eiweisskörper*) neben einander vorhanden: ein albumosenähnlicher, der, wie bei Kühne u. A., bei 100° vollständig in Lösung ging, und ein zweiter, der nach Art der typischen Eiweisskörper in der Siedehitze völlig coagulirte. Es konnte scheinen, als ob der erste der beiden im Anfang in überwiegender Menge im Urin vorhanden gewesen sei, um später ganz zu verschwinden. Ich muss diese Annahme von vornherein zurückweisen. Erstens zeigte der Urin, sowie der isolirte Eiweisskörper zu allen Zeiten genau das gleiche Verhalten gegenüber der fractionirten Ausfällung mit Ammoniumsulfat (siehe weiter unten); ferner aber gelang es, durch ganz geringe, anscheinend sehr wenig eingreifende Manipulationen (Fällung mit Alkohol, Lösen des Niederschlages in dünnem Ammoniakwasser, Neutralisiren mit Salzsäure) den Körper,

Eiweisskörpers und daneben keinen anderen Eiweisskörper enthielt. Nach Zusatz von etwas Chlorammonium zu dem neutralisirten Urin zeigte dieser jedoch das charakteristische Phänomen der (theilweisen) Klärung bei 100° und der Trübung beim Erkalten sehr schön. S. w. u. S. 213.

*) Matthes, sowie Ellinger fanden ausser dem Bence-Jones'schen Eiweisskörper noch Nucleoalbumin in ihren Fällen.

der im Urin völlig coagulirte, ohne Rest in eine Lösung zu bringen, in der er beim Erhitzen sich zu absoluter Klarheit löste (s. weiter unten S. 212).

Zu 2. 25^o/ige Salpetersäure bewirkt in der Kälte Ausfällung, die sich im 10fachen Ueberschuss des Fällungsmittels nicht löst, wohl aber, wenigstens theilweise, beim Kochen unter Auftreten der Xanthoproteinreaction. Beim Erkalten kehrt der Niederschlag zurück; beim Neuerwärmen bleibt abermals ein Antheil, und zwar ein grösserer als beim ersten Mal, ungelöst (übrigens in auffallend grobkörniger Structur, die auch sonst öfter beobachtet wurde, aber nie krystallinischer Natur war). Kühne und Süssmann sahen ihren (allerdings nur in geringer Menge auftretenden) Eiweisskörper sich schon in der Kälte in einem Ueberschuss von Salpetersäure auflösen. Bei mir trat dieses Phänomen nie auf, auch nicht bei starker Verdünnung des Urins.

Zu 3. Verdünnte Salzsäure (12 ¹/₂ %) fällt wie Salpetersäure in der Kälte; die Flüssigkeit klärt sich unter Dunkelfärbung beim Erhitzen theilweise, beim Erkalten erscheint kein oder nur ein sehr spärlicher Niederschlag.

Zu 7. Neutralisation mit Natronlauge nach reichlichem Zusatz von Essigsäure oder umgekehrt ergibt ein massenhaftes Präcipitat; dasselbe fällt noch reichlicher aus, wenn der alkalische oder angesäuerte Harn vor der Neutralisation erhitzt wird (wobei er zunächst klar bleibt); es bleibt aus, wenn nur wenig Alkali oder Säure zum Harn zugesetzt war.

Zu 11. Verhalten gegen Alkohol. Zusatz von 2 Volumina 96^o/igen Alkohols scheidet den Körper vollständig aus. Der Niederschlag ist nach einigem Stehen leicht abzufiltriren und, sofern gut ausgewaschen, fast rein weiss und mässig aschenhaltig. Bei längerer Berührung mit Alkohol verliert er seine Löslichkeit für Wasser und verdünnte Salzlösungen fast vollständig; ebenso im trockenen Zustand. Eine Reinigung durch wiederholtes Ausfällen mit Alkohol und Wiederauflösen in Wasser gelingt mit Zuhülfenahme einer grossen, schnellwirkenden Centrifuge (s. S. 210).

Zu 15. Kochsalz. Zusatz von 2 Theilen gesättigter

Kochsalzlösung zum neutralisirten Urin gibt keine Fällung. Die Aussalzung mit Steinsalz bewirkt im Urin eine geringe Fällung (jedoch nicht in einer Lösung des gereinigten Körpers). Die bei Zimmertemperatur erhaltene Fällung ist in Wasser löslich, also eine echte Salzfällung. Nimmt man dagegen die Sättigung bei 36° vor, so ist die Ausscheidung der Eiweisssubstanz eine vollständige, aber der Niederschlag geht beim Verdünnen mit Wasser nicht mehr in Lösung. Er ist «coagulirt», indem durch den starken Salzgehalt die Coagulationstemperatur unter die sonst beobachtete Höhe (im Urin ca. 50°) heruntergedrückt worden ist.

Zu 18. Aussalzen mit Ammonsulfat. Zusatz von 2 Volumina gesättigter Ammonsulfatlösung scheidet den Körper quantitativ aus. Der Niederschlag ist in Wasser leicht löslich, sofern die Fällung bei neutraler Reaction stattgefunden hat. Bezüglich der Methodik der Aussalzung von Eiweisskörpern und der Bedeutung dieses Verfahrens für deren Isolirung und Charakterisirung verweise ich auf die Arbeiten von Kauder,¹⁹⁾ Pohl,¹⁵⁾ Ernst P. Pick.¹⁴⁾

Die untere und obere Fällungsgrenze für meinen Körper lagen in dem neutralisirten Urin bei einem Gehalt von 4,0 bezw. 5,5—6,0 ccm. Ammonsulfatlösung auf 10 ccm. Gesamtvolumen; d. h. die Fällung begann, wenn 10 ccm. der Mischung von Urin, Wasser und gesättigter Ammonsulfatlösung 4,0 ccm., und war beendet, wenn sie 6 ccm. der letzteren Flüssigkeit enthielten. Ausserhalb dieser Grenzen fiel kein eiweissartiger Körper aus. Bei einem Zusatz von 2,8—4 ccm. Ammonsulfatlösung liess der Urin nach längerem Stehen ein relativ reichliches feinkörniges Sediment fallen, das sich ausschliesslich als aus harnsaurem Ammon bestehend erwies.

II. Isolirung und Verhalten des rein dargestellten Körpers. Gewinnung von Krystallen.

Für die Isolirung und Reindarstellung des Körpers wurden zwei Methoden in Anwendung gezogen, die Ausfällung mit Ammonsulfat und die durch Alkohol.

1. *Ausfällung mit Ammonsulfat.*

Durch Ausfällen grösserer Mengen neutralisirten Urins mit dem doppelten Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung, Auflösen des abfiltrirten, gut ausgewaschenen und scharf abgepressten Niederschlages und mehrfache Wiederholung dieser Proceduren wurden grössere Mengen des Körpers gewonnen. Das bei der ersten Fällung mitgerissene harnsaure Ammon blieb bei der weiteren Umfällung zurück, dagegen wurde stets ein dunkler Farbstoff mitgefällt, der nur durch Filtriren über Thierkohle (allerdings mit grossem Verlust) entfernt werden konnte. Der Eiweisskörper wurde als Niederschlag unter einer zu zwei Dritteln, oder gelöst in einer zu einem Drittel gesättigten Ammonsulfatlösung aufbewahrt.

Zur Anstellung von verschiedenen Reactionen dienten entweder Lösungen des so gereinigten Körpers, die durch tagelanges Dialysiren gegen fliessendes Leitungs-, zuletzt gegen destillirtes Wasser fast salzfrei gemacht waren, oder aber ein Fällungsprodukt, das durch Kochen der noch schwach ammonsulphalthigen Lösung niedergeschlagen war. Das so coagulirte und gänzlich unlöslich gewordene Präparat wurde mit heissem Wasser erschöpft, doch gelang es trotz wochenlangen Auswaschens nicht, die letzten Reste des Ammonsulfates fortzuschaffen. Andere Aschenbeimengungen enthielt es nur in geringer Menge (P, Ca, Mg, kein Chlor). An diesem Präparat fielen, ebenso wie im Urin, die Schwefelprobe, die Reactionen von Millon, von Molisch und die von Adamkiewicz positiv aus. Bei der Kalischmelze: Indolgeruch und Röthung eines Fichtenspanes. Die Substanz enthält also nicht oxydirten Schwefel, die Tyrosin- und die Indolgruppe, sowie den Kohlenhydratcomplex; letzteren jedoch, nach der Stärke der Reaction zu schliessen, nur in geringer Menge.

Bei der Spaltung mit Salzsäure und Schwefelsäure, die Dr. Spiro anstellte, wurde Leucin neben verhältnissmässig viel Tyrosin und Glutaminsäure gefunden. Eine Untersuchung auf Glykokoll nach Spiro's²⁰⁾ Methode fiel in dessen Händen trotz Verarbeitung relativ grosser Mengen (ca. 30 g) negativ aus. Dieser Befund gewinnt an Interesse dadurch, dass, wie Spiro gezeigt hat, die Heteroalbumose (des Fibrins)

reichlich Glykokoll enthält. Der Nachweis dieser Amidosäure gelang Spiro auch bei verschiedenen Eiweisskörpern, die den Complex der Heteroalbumose enthalten. Letztere Gruppe fehlt aber im Casein und im Bence-Jones'schen Eiweisskörper (s. w. u.) Bei beiden fehlt auch das Glykokoll.

In der dialysirten Lösung fielen die verschiedenen Fällungsreactionen ähnlich aus, wie im Urin. Ein wichtiger Unterschied besteht aber in dem Verhalten gegen Steinsalz. Während die Sättigung mit diesem Salz im neutralisirten Urin bei Zimmertemperatur eine deutliche und erhebliche Trübung bewirkt, bleibt diese in der Lösung des gereinigten Körpers ganz aus.

Einen anderen Unterschied hingegen, den frühere Forscher zwischen dem Verhalten des Urins und dem einer reinen, salzfreien Lösung des Körpers festgestellt hatten, konnte ich nicht constatiren. Mehrere Autoren hatten gefunden, dass der Bence-Jones'sche Körper, durch Dialyse salzfrei gemacht, in der wässerigen Lösung (ohne Zusatz von Salz oder Säure) nicht mehr beim Erwärmen ausfiel. Mir gelang das nicht, selbst als nach tagelangem Dialysiren der eingedampfte Rückstand des Aussenwassers sich als chlorfrei erwies. Stets wurde beim Erwärmen auf ca. 60° ein Niederschlag erzielt.

Der Körper fällt, wie das auch Ellinger für seine Substanz angegeben hat, aus schwach saurer Lösung auf Zusatz von Ammoniak nicht aus. (Reaction auf Histon.) Die Fällungsgrenzen der dialysirten neutralen Lösung für Ammonsulfat liegen bei 4,4 bzw. 6,2 ccm., also um ein Geringes höher als im Urin.

2. Ausfällung mit Alkohol.

Ein anderes Präparat wurde hergestellt durch Ausfällen des Urins mit 2 Theilen Alkohol und Ausschleudern auf einer grossen, elektrisch betriebenen Centrifuge, deren Benutzung mir Prof. Schmiedeberg freundlichst gestattete. Während längere Berührung mit Alkohol den Körper «coagulirt», tritt das bei der kurzen Dauer dieses Verfahrens nicht ein. Bereits nach einer Stunde konnte die klare Flüssigkeit abgehoben und der alkoholdurchtränkte Niederschlag in Wasser suspendirt der

Dialyse ausgesetzt werden. Er löst sich dabei leicht nach einiger Zeit, ohne auch nur in Spuren zu diffundiren. Nach 3—4maligem Wiederholen der Procedur wird der Niederschlag mit kaltem und heissem absoluten Alkohol, dann mit Wasser, wieder mit Alkohol und mit Aether erschöpft und trocken aufbewahrt.

Das Präparat enthält noch reichlich Asche, hauptsächlich Kalk, Magnesia und Phosphorsäure, wohl von vorneherein in Form anorganischer Salze.

Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ergibt in diesem Präparat 15,56 und 15,59% N, berechnet auf die aschenfreie, bei 110° getrocknete Substanz, ebensoviel als Neumeister und Ellinger in ihren Fällen gefunden hatten.

Die Form, in der der Stickstoff innerhalb des Moleküles gebunden ist, wurde nach Hausmann¹⁶⁾ ermittelt. Es waren vorhanden in Form von

Amidstickstoff	1,33 %	=	8,6 %	des Gesamt-N,
Diaminostickstoff	3,87 %	=	24,7 %	» »
Monaminostickstoff	10,00 %	=	64,2 %	» »

also gefunden statt

$$15,57 \text{ (bezw. } 100\%) \quad 15,20\% = 97,5\% \quad \text{»} \quad \text{»}$$

Die Vertheilung des Stickstoffs ist also eine ähnliche, wie sie Hausmann für das krystallisirte Eieralbumin und das Serumglobulin angibt.

Vollkommen phosphorfrei konnte ich meinen Körper nicht erhalten, auch dann nicht, als ich nach Ellinger's Vorgang die durch Alkoholfällung gewonnene Substanz in heissem Wasser nach Zusatz von etwas Natriumcarbonat löste und die Lösung neutralisirte; eine Fällung von Nucleoalbumin beobachtete ich dabei nicht, auch nicht bei leichter Ansäuerung. Nach mehrfacher Wiederholung der Procedur betrug der P-Gehalt nur noch 0,05%. Es scheint sich darnach um sehr schwer zu entfernende Aschenbeimengungen zu handeln, jedenfalls nicht um ein meinen Körper in geringer Quantität begleitendes Nucleoalbumin. Wenigstens habe ich bei den Verdauungsversuchen nie ein unlösliches Nucleinprodukt auftreten sehen.

Bei längerer Berührung mit Alkohol werden die durch

dieses Fällungsmittel erhaltenen Niederschläge in Wasser ganz oder fast ganz unlöslich. Doch lassen sie sich noch in Lösung bringen, so z. B. durch verdünnte siedende Natriumcarbonatlösung, wie Ellinger angibt, und wie das auch mir leicht gelang. — Noch weniger eingreifend erschien mir folgendes Verfahren, bei dem ich eine überraschende und wichtige Beobachtung machte.

Der neutralisirte Harn wurde mit 2 Theilen Alkohol versetzt, gekocht, der Niederschlag auf dem Filter mit heissem 66^o/_oigem Alkohol ausgewaschen und unter $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ ^o/_oige Ammoniaklösung gebracht. Nach einigen Stunden (beim Erhitzen viel schneller) ist völlige Auflösung eingetreten. Auf Zusatz sehr verdünnter Salzsäure erhält man, wenn die Reaction gerade anfängt neutral zu werden, eine geringe, kaum abzufiltrirende Trübung, beim Ansäuern eine voluminöse, ohne eingreifende Mittel nicht in Lösung zu bringende Fällung. Wichtig ist das Verhalten der genau neutralisirten, etwa 1—2 Procent Chlorammonium enthaltenden Lösung. Diese gibt, wie der native Urin, beim Erwärmen eine sehr starke Ausfällung, die sich aber zum Unterschied von dem Urin in der Siedehitze zu absoluter Klarheit löst. Beim Erkalten erscheint der Niederschlag wieder. In dieser Flüssigkeit kann Ausfällung und Wiederauflösen beliebig oft wiederholt werden, ohne dass auch nur Spuren bei 100^o ungelöst bleiben.

Da die gewöhnlich im Harn auftretenden Eiweisskörper nach Alkoholcoagulation sich nicht in verdünntem Ammoniak auflösen, so kann eine Beimengung von solchen jedenfalls nicht vorhanden gewesen sein.

Die wesentliche Bedeutung des Versuches liegt aber in anderer Richtung.

Es ist nämlich gelungen, den Körper, der sich im Urin unter Umständen durch Kochen in der Siedehitze vollständig ausfällen liess, in eine Lösung überzuführen, in der er sich (genau wie im Urin des Kühne'schen Falles) beim Sieden wasserklar und restlos löste.

Dieser Versuch zeigt auf das Schlagendste, dass die Verschiedenheiten in dem Verhalten des Körpers bei 100^o nur abhängig sind von den Eigenschaften des lösenden Mediums.

Entfernung der anderen Harnbestandtheile und Zusatz von Chlorammon lässt die Löslichkeit bei 100° auf das Schönste hervortreten. Aber auch ohne Entfernung der im Urin enthaltenen Stoffe, d. h. im Urin selbst bewirkt ein Zusatz von Salmiak ein deutlicheres Hervortreten der für unseren Körper charakteristischen Reaction.

Man erhält also aus dem Alkoholcoagulat den Körper durch NH_3 oder NaHCO_3 mit nachfolgender Neutralisation von Neuem in einer Lösung, in der er seine hervorstechendste Eigenschaft wieder zeigt. Ob er ganz unverändert ist, lässt sich bezweifeln. Wenigstens ist das Verhalten gegen Ammonsulfat ein anderes, die Fällungsgrenzen liegen niedriger, so für ein durch Ammoniak in Lösung gebrachtes Präparat bei (2,5 bzw. 6,0 ccm.) Ammonsulfatlösung; für ein solches, das mit NaHCO_3 behandelt und dann neutralisirt war, bei 0,6 bzw. 2,2 ccm. Die Fällungsgrenze erwies sich hier als nicht ganz constant.

Inzwischen hat Spiro (s. d. vorangehende Publication) die Entdeckung gemacht, dass auch die gewöhnlichen echten Eiweissstoffe ihre Gerinnbarkeit bei 100° und die Fällbarkeit durch Alkohol auf Zusatz von Harnstoff leicht einbüßen, ja dass coagulirtes Eiweiss durch Harnstofflösung verflüssigt wird.

Im Anschluss an diese Entdeckung habe ich auch den Einfluss von Harnstoff und einigen Salzen auf meinen Körper studirt. Benutzt wurden einerseits neutraler Urin mit ca. 2% des Bence-Jones'schen Körpers, ein desgleichen schwach alkalischer und eine ca. 2% enthaltene salzfrei dialysirte Lösung des Bence-Jones'schen Körpers (durch Ammonsulfatfällung gewonnen). Untersucht wurde der Einfluss von Harnstoff, Kochsalz, Salmiak, Chlormagnesium in concentrirten Lösungen von bekannter Stärke, sowie von 2 verschiedenen Mischungen von Monokaliumphosphat mit Dinatriumphosphat, von denen die eine stark alkalisch, die andere stark sauer war.

Allemaal wurden zu 2 ccm. der Lösung des Bence-Jones'schen Körpers verschiedene Mengen des Harnstoffs resp. der Salzlösungen hinzugefügt und dann mit destillirtem Wasser auf 4 ccm. aufgefüllt.

Das summarische Ergebniss der Versuche ist folgendes:

Ein Unterschied zwischen den drei verschiedenen Lösungen des Bence-Jones'schen Körpers war nicht vorhanden. Von den angeführten Salzen lässt nur das Chlorammonium die Löslichkeit des Bence-Jones'schen Körpers bei 100° stärker hervortreten, und zwar gibt es ein Optimum für den Zusatz des Salmiaks; die anderen Salze erweisen sich als wirkungslos; auch beim Zusatz von Salmiak wird eine absolute Klärung bei 100° nicht erzielt, es bleibt eine feine Trübung bestehen. Ausserordentlich viel stärker ist der Einfluss des Harnstoffs; es gelingt bei einem grossen Zusatz von Harnstoff, eine bei 100° klare Lösung zu erzielen; andererseits fallen bei solchem Zusatz beim Erwärmen nur mehr wenig Flocken aus; steigert man den Harnstoffgehalt noch um ein Geringes, so gibt die Lösung bei keiner Temperatur einen Niederschlag, auch nicht beim Wiederabkühlen.

Die folgende Tabelle illustriert diese Angaben über die Wirkung des Harnstoffs:

Harn	50% Harnstofflösung	H ₂ O	Die Mischung enthält an zugesetztem Harnstoff	Beim Erwärmen	Bei 100°	Bei Abkühlung	Wiederholtes Erwärmen, Abkühlen
2 ccm.	0	2,0 ccm.		starke Fällung	trübe, viel grobe Eiweisscoagula	Trübung nimmt zu ¹⁾	Genau wie beim erstmaligen Erwärmen
»	0,2	1,8 »	2,5 %	» »	} weniger trübe, kein Eiweisscoagulum	» » »	
»	0,4	1,6 »	5,0 %	» »		starke Fällung	
»	0,5	1,5 »	6,25 %	geringere Fällung	fast klar	» »	
»	0,6	1,4 »	7,5 %	starke Trübung	absolut klar	» Trübung	
»	0,7	1,3 »	8,7 %	minimale schnell verschwindende Trübung	» »	keine Fällung, bleibt klar ²⁾	
»	0,8	1,2 »	10,0 %	bleibt klar	» »	» »	
»	1,0	1,0 »	12,5 %	» »	» »	» »	
»	1,5	0,5 »	18,8 %	» »	» »	» »	
»	2,0	0,0 »	25,0 %	» »	» »	» »	

1) Zusatz von Harnstofflösung bringt in der Kälte die Coagula leicht in Lösung.

2) Zusatz von H₂O bewirkt deutliche Trübung, die beim Erwärmen stark zunimmt.

Der Zusatz von Harnstoff macht den Körper an sich nicht ungerinnbar. Verdünnt man eine solche mit Harnstoff versetzte beim Kochen und beim Abkühlen klar gebliebene Lösung mit Wasser, so tritt nunmehr schon in der Kälte ein Niederschlag auf, der sich bei 50° verstärkt.

Niederschläge des Bence-Jones'schen Körpers, die durch Erhitzen und Wiederabkühlen gewonnen sind, gehen in mässig starker Harnstofflösung schon in der Kälte leicht in Lösung.*) Zusatz von Harnstoff zum Urin erschwert die Ausfällung des Eiweisskörpers durch Alkohol (und andere Reagentien). In einer $12\frac{1}{2}$ Procent Harnstoff enthaltenden Lösung sind (statt sonst zwei) $4\frac{1}{2}$ Volumen Alkohol zur vollständigen Ausfällung nöthig.

Im Anschluss an diese Versuche wurde noch der Einfluss der ebengenannten Zusätze auf die Ausscheidungstemperatur des Eiweisskörpers untersucht und zwar für Harnstoff, Kochsalz und Salmiak. Scharf beobachten liess sich hierbei nur das Eintreten der ersten Trübung, sowie der Zeitpunkt, bei dem das Maximum der Klärung erreicht wird. (Die Momente der beginnenden Flockenbildung, der maximalen Trübung, der beginnenden Aufhellung lassen sich auch bei gleichzeitiger Anstellung der verschiedenen Versuche nicht genügend scharf angeben.) Ein Einfluss des zugesetzten Salmiaks auf die Temperatur, bei der die erste Trübung erreicht wird, war nicht nachweisbar. Steigender Kochsalzzusatz erhöhte die Fällungstemperatur um ein Geringes (von 54 auf 56°); erst bei sehr starkem Kochsalzgehalt tritt eine Herabsetzung ein, so dass eine mit Salz gesättigte Lösung bei 46° die erste Ausscheidung zeigt; lässt man bei 37° im Brutofen die gesättigte Lösung einige Stunden stehen, so tritt eine vollständige Coagulation schon bei dieser Temperatur ein. Steigender Harnstoffzusatz erniedrigt den Trübungspunkt (von $53,5$ auf $52,5^{\circ}$).

*) Auch diese schon einmal unlöslich gewesenen Lösungen zeigen ähnlich wie die wieder in Lösung gebrachten Alkoholfällungen (s. S. 213) eine Verschiebung der Fällungsgrenzen durch Ammoniumsulfat nach unten.

2 ccm.	2,0	2,0	1,0	2,0					Urin
0 »	0,2	0,4	0,7	0,8	1,0 ccm.	50%	Harnstofflösung		
2 »	1,8	1,6	1,3	1,2	1,0 »	Aqua dest.			
53,5	52,5	52,5	52,5	57,0	bleibt aus				erste Trübung
58	53,5	53,5	57,0	bleibt aus	» »				dichte »
59	56	56	63	» »	» »				Flockenbildung unter Klärung
67	62	58	63	63	» »				Aufhellung
85	76	72	71	71	—				Maximum der Klärung erreicht
viel Coagula in geschmolzenem Zustand	wenig Coagula		ganz klar			bei 100°			
	geringe Trübung	deutliche Trübung	minimale Trübung	bleibt klar			bei Abkühlung.		
Harn	2ccm.	2 ccm.	2 ccm.	2 ccm.	2 ccm.	2 ccm.	1 ccm.	4 ccm	
20% NaCl-Lösung	0 »	0,2 »	0,4 »	0,8 »	1,2 »	1,6 »	3,0 »	mit Steinsalz gesättigt	
Aqua dest.	2 »	1,8 »	1,6 »	1,2 »	0,8 »	0,4 »	—		
Erste Trübung	54,0	54,5	55,0	55,0	55,5	56,0	56,5	46,0°	

Gewinnung von Krystallen.

Versuche, solche nach Hofmeister's Methode durch freiwillige Verdunstung einer ammon-sulfathaltigen Lösung des Bence-Jones'schen Körpers zu erhalten, schlugen trotz Anwendung der verschiedensten Kunstgriffe zunächst fehl. Es wurden nur schöne grosse Globuliten erhalten. Erst als eine Lösung des Körpers, die etwas weniger als 40 Volumprocente gesättigter Ammonsulfatlösung enthielt (bei welchem Gehalt die untere Fällungsgrenze noch nicht erreicht ist), in verschlossener Flasche bei Zimmertemperatur fortgestellt war, zeigten sich nach Ablauf von vier Monaten millimetergrosse, glitzernde Krystalle in Drusen an den Wänden der Flasche ausgeschieden. Ihre Menge vermehrte sich, als die Flüssigkeit nun einer äusserst langsamen Verdunstung ausgesetzt wurde. Nach weiteren drei Monaten stand eine etwas grössere

Menge von schön ausgebildeten Krystallen, gemischt mit weniger schönen Exemplaren und mit Globuliten, zur Verfügung. Sie wurden abfiltrirt, scharf abgepresst, in Wasser gelöst und mit Ammonsulfatlösung bis zur beginnenden Trübung versetzt. Nach 24 Stunden war ein grosser Theil des Eiweisskörpers krystallinisch ausgeschieden, und der noch in Lösung verbliebene Antheil konnte durch weiteren Zusatz von Ammonsulfat krystallisirt erhalten werden. Auf diesem Wege wurde der Körper noch mehrfach umkrystallisirt; er fiel dabei sofort krystallisirt aus. Makroskopische Krystalle wurden nie wieder erhalten. — Leider musste ich mich auf diese aus jener einen Flasche erhaltene Ausbeute beschränken. Trotz Wiederholung der Versuche unter den gleichen äusseren Bedingungen, trotz Impfung mit den vorhandenen Krystallen, trotz aller erdenklichen Variationen, die durch ein ganzes Jahr fortgeführt wurden, gelang es nicht, weitere Krystalle zu gewinnen. Die Ausbeute war gering, ca. 1 g.

Die Krystalle zeigten die Gestalt schöner Rhomboeder, etwa der Kalkspatrhomboeder; sie erwiesen sich im Gegensatz zu den Globuliten als doppeltbrechend, in Uebereinstimmung mit allen anderen bisher auf gleichem Wege erhaltenen Eiweisskrystallen.

Bei der geringen Menge des Materials konnte ich nur die hauptsächlichsten Eigenschaften der Krystalle prüfen.

Die unter einer ammoniumsulfathaltigen Lösung aufbewahrten Krystalle lösten sich nach dem Filtriren und Abpressen etwas langsamer in Wasser als der unkrystallisirte Körper, immerhin genügend leicht. Die wässrige Lösung wurde beim Erwärmen stark getrübt, bei 100° wurde sie bei noch vorhandenem geringen Salzgehalt klar, während nach starker Dialyse, wenn das Ammonsulfat bis auf Spuren entfernt war, in der Siedehitze Klärung nicht eintrat. Die Fällungsgrenzen durch Ammonsulfat lagen für die salzfreie, sehr stark verdünnte Lösung des Bence-Jones'schen Körpers bei 4,8 resp. 6,6 ccm. Ammonsulfatlösung, also etwas höher als im Urin.

Gegen Salpetersäure, Kochsalz, Kochsalzessigsäure, Ferrocyaniumessigsäure reagierte die Lösung des krystallisirten Körpers genau wie die des nicht krystallisirten.

Die Krystalle waren noch nicht aschefrei: Bei der Salpeterschmelze ergaben sie (durch Molybdänsäure- und Tripelphosphatniederschlag nachgewiesen) einen geringen Phosphorgehalt. Da die direkte Veraschung im Platintiegel aber eine nicht saure, sondern eine in Wasser unlösliche, in Salzsäure lösliche Asche lieferte, so darf auch hier der Phosphorgehalt wohl auf eine Beimengung von Kalk und Magnesiaphosphat bezogen werden.

In letzter Zeit ist es gelungen, durch geeignete Vorbehandlung (mit ammoniakalischer Magnesialösung) die Phosphate zu entfernen und ganz phosphorfremde Präparate zu erhalten. (Zur Verbrennung gelangten zweimal Proben von mehr als 1 g des Bence-Jones'schen Körpers [Alkoholfällung].)

Bisher sind nur wenige dem Thierreiche entstammende Eiweisskörper krystallisirt erhalten worden; vor vielen Jahrzehnten schon die Hämoglobine verschiedener Thierarten, die ohne Zusatz von Salzen krystallisiren. Aus salzhaltiger Lösung krystallisiren das Eieralbumin (Hofmeister²¹), das Serumalbumin des Pferdes, des Kaninchens (Gürber²²), des Meer-schweinchens (S. Gruzewska²⁶) und der Bence-Jones'sche Körper. Moraczewski's²³) Angabe, dass er Casein und Vitellin in Verbindung mit Phosphaten zur Krystallisation gebracht habe, hat noch keine Bestätigung gefunden.

Der Bence-Jones'sche Körper ist, vom Hämoglobin abgesehen, der erste dem menschlichen Organismus entstammende Eiweisskörper, dessen Krystallisation im Glase des Chemikers gelungen ist. Zwar ist noch ein anderer krystallisirter Eiweissstoff gleicher Abstammung bekannt; aber dieser gelangte bereits in krystallisirtem Zustand dem Chemiker in die Hände: es ist dies der von Noël Paton¹³) im Harn eines (an einer unbekanntem Krankheit leidenden) Mannes aufgefundene Eiweisskörper. Dieser, offenbar ein Globulin, fand sich im Harn in kolossaler Menge vor, zum Theil gelöst, zum Theil in centimeterlangen, prachtvoll ausgebildeten Nadeln. Der im Harn gelöste Antheil schied sich bei der Dialyse gleichfalls in Krystallen aus. — Dieser Körper ist seither noch nicht wieder gefunden worden.

Es ist interessant, dass die beiden einzigen aus dem

menschlichen Stoffwechsel herrührenden Eiweisskörper, die man in krystallisirtem Zustand kennt, pathologische Produkte sind, und dass sie im Harn vorkommen.

III. Verhalten bei der Pepsinverdauung.

Die bisher angeführten Versuche hatten die Vermuthung wachgerufen, dass es sich bei unserem Körper nicht um eine albumosenähnliche Substanz handle, sondern dass sie vielmehr den genuinen Eiweisskörpern nahe stehe; Verdauungsversuche mit Pepsin konnten unter Umständen Aufklärung liefern. Wir haben uns zur Trennung der Albumosen ausschliesslich der Hofmeister'schen Methode, wie sie von E. P. Pick¹⁴⁾ eingeführt wurde, bedient. Unter den Verdauungsprodukten kann man zur Zeit mindestens zwei primäre (Proto- und Heteroalbumose), sowie mindestens drei «secundäre Albumosen A, B, C» unterscheiden und von einander trennen, und weiterhin zwei «Peptone» isoliren.

Aus dem Verdauungsgemisch des Bence-Jones'schen Körpers konnte ich eine durch Halbsättigung mit Ammonsulfat fällbare Albumose isoliren, die sich nach ihrer relativen Löslichkeit in Alkohol und nach ihren sonstigen Reactionen als Protoalbumose erwies, dann drei durch grösseren Ammonsulfatzusatz fällbare Albumosen und zwei Peptone; diese Körper zeigten im Wesentlichen ähnliche Eigenschaften, wie die entsprechenden Produkte aus Fibrin, Albumin, Globulin u. s. w. Eine Substanz vom Verhalten der Heteroalbumose fand sich nicht. — Ebensowenig gelang der Nachweis eines unlöslichen Nucleins im Verdauungsgemisch.

Der Verdauung wurden nach orientierenden Vorversuchen ca. 40 g einer drei- bis viermal mittelst Ammonsulfat «umgefällten» Substanz unterworfen, die zum Schluss durch 24stündige Dialyse vom grössten Theile des Salzes befreit worden war. Als Pepsin diente das beste Grübler'sche Präparat. Nach spätestens 2—3stündiger Verdauung war der ursprüngliche Körper ganz verschwunden und liessen sich schon sämmtliche überhaupt erhältliche Fractionen, inclusive der Peptone, nachweisen; nach 6—10 Stunden waren noch reichlich «primäre», d. h. durch Halbsättigung mit Ammonsulfat fällbare Albumosen vorhanden, nach 30 Stunden nur spärliche Reste derselben. Nach einer Verdauung von 8 Tagen waren sie nicht mehr nachweisbar; es fanden sich nur wenig «secundäre

Albumose A», reichlich dagegen die anderen Fractionen vor. — Bei der Neutralisation der Verdauungsflüssigkeiten wurde ein Präcipitat nie erhalten; doch schieden sich beim Eindampfen des neutralisirten Verdauungsgemisches auf etwa ein Fünftel Flocken (von Acidalbumin?) aus, deren Menge zur Untersuchung nicht ausreichte. — Bei der Trennung der einzelnen Fractionen verfuhr ich genau wie Pick, Alexander¹⁷⁾, Umber¹⁸⁾ u. s. w., auf deren Arbeiten ich verweise.

Die untere und obere Fällungsgrenze der ersten Fraction (primäre Albumosen) lagen bei 3,2 bezw. 4,8 (bei einem zweiten Versuche bei 2,8 bezw. 4,8), die für die zweite Fraction (secundäre Albumose A) bei 5,6 bezw. 7,2, für die dritte (secundäre Albumose B) bei 7,8 bezw. 9,2 ccm. Die vierte (secundäre Albumose C) fiel am besten aus beim Zusatz von $\frac{1}{10}$ Volumen schwefelsäurehaltiger Ammonsulfatlösung zu der ammoniumsulfatgesättigten Auflösung; die beiden Peptone wurden, wie bei Pick und Umber, durch Fällung mit Jodjodkalium gewonnen und dann durch Alkohol getrennt, dann gereinigt. Ein Vergleich dieser Fällungsgrenzen mit denen der Verdauungsprodukte des Fibrins, Eialbumins, Serumalbumins und Serumglobulins (cf. deren Zusammenstellung bei Umber) zeigt eine Aehnlichkeit des Verhaltens unseres Körpers mit dem Globulin. Während die Fällungsgrenzen für die secundäre Albumose A bei den übrigen obengenannten Körpern bei 5,4 bezw. 6,2 ccm. liegen, sind sie beim Serumglobulin und dem Bence-Jones'schen Körper erheblich höher (5,6 bezw. 7,2 ccm.). Die Gesammtausbeuten waren, wie bei den früheren Autoren, im Vergleich zu der Menge des Ausgangsmaterials gering, immerhin zur Anstellung aller Reactionen ausreichend. In sehr spärlicher Menge war nur die secundäre Albumose C vorhanden.

Aus der ersten Fraction der «primären Albumose», war eine Heteroalbumose nicht abzuscheiden, weder bei der Dialyse (Kühne), noch auch nach Zusatz von einem halben und einem ganzen Volumen Alkohol zur wässerigen Auflösung und mehrstündigem Kochen des Gemisches am Rückflusskühler (E. P. Pick). Nach letzterer Methode war im Hofmeister'schen Laboratorium aus den beiden sogenannten «primären Albumosen» bei sämtlichen bisher untersuchten Körpern, mit Ausnahme des Caseins, eine Heteroalbumose isolirt worden. Nur bei letzterem Produkte und bei unserem Körper fehlte sie.

Die folgende Tabelle gibt eine Uebersicht der Fällungsgrenzen und der hauptsächlichsten Reactionen unseres Körpers und seiner Verdauungsprodukte. Die letzteren verhalten sich im Allgemeinen ähnlich wie die Pepsinspaltungsprodukte aus anderen Eiweisskörpern, soweit sie bis damals in Hofmeister's Laboratorium untersucht waren; einige Abweichungen (Auftreten der Millon'schen Probe beim Pepton B, die Schwäche der Molisch'schen Reaction bei den secundären Albumosen A, B u. s. w.) machen eine erneute Untersuchung wünschenswerth. Sie sind zum Theil vermuthlich von der noch nicht weit genug durchgeführten Trennung und Reinigung der einzelnen Fractionen abhängig.

Tabelle II.

Reactionen des Bence-Jones-Körpers und seiner Verdauungsprodukte.

	Schwefelprobe	Millon's Reagens	Biuret-Probe	Molisch's Probe	Adamkiewicz' Probe	Aussalzen mit Steinsalz	Steinsalz und Essigsäure	Verdünte Kupfersulfatlösung
1. Bence-Jones-Körper	starke Schwärzung	intensiv	violettroth	schwach, aber deutlich	sehr schön	keine Fällung	vollständige Ausfällung	starke Fällung
2. Protalbumose	starke Schwärzung	stark roth	rein roth	viel stärker als bei 1	schwach	Fällung	Fällung stärker als bei Steinsalz allein	starke Fällung
3. Secund. Albumose A	Braunfärbung	stärker als bei 2	violettroth	minimal (?)	schwach	starke Fällung	Steinsalz allein	keine Fällung
4. „ B	„	wie bei 2	roth	minimal (?)	etwas schwächer	keine Fällung	unvollständige Fällung	„
5. „ C	negativ	sehr schwach	blauviolett	deutlich	minimal	„	keine Fällung	„
6. Pepton A alkoholunlöslich	„	sehr schwach	purpurfarben	negativ	negativ	„	„	„
7. Pepton B alkohollöslich	„	deutlich	rein roth	„	„	„	„	„

IV. Zusammenfassung und Vergleich mit den Angaben früherer Autoren.

Ich habe im Urin meines Falles nur einen einzigen Eiweisskörper nachweisen können. Die Abwesenheit von Albumin und Globulin liess sich durch das abweichende Verhalten gegen Ammonsulfat*) ausschliessen, die des letztgenannten Eiweisses auch noch durch das Verhalten des Harns gegen Magnesiumsulfat und bei Einleiten von Kohlensäure sowie bei der Dialyse. Vor Allem spricht gegen die Anwesenheit eines der gewöhnlichen coagulablen Eiweisskörper der Umstand, dass der durch Alkohol erhaltene unlöslich gewordene Niederschlag sich restlos in verdünntem NH_3 löste, und diese Lösung nach Neutralisation wieder das Verhalten des ursprünglichen Körpers, d. h. völlige Löslichkeit bei 100° , zeigte. — Nucleoalbumin, von Matthes und Ellinger gefunden, schien nicht beigemischt zu sein. Auch die Anfangs sich aufdrängende Möglichkeit, dass zwei von den gewöhnlichen abweichende Eiweisskörper in dem Urin vorhanden seien, hat sich als unrichtig erwiesen.

Der von mir untersuchte Bence-Jones'sche Körper steht den von früheren Forschern studirten jedenfalls nahe. Bezeichnen diese ihn aber durchgängig als eine mit den Verdauungsalbumosen identische oder ihnen nahestehende «Albumose», so kann ich für meinen Körper dieser Auffassung nicht beipflichten.

Die Beschreibung, die die bisherigen Autoren von dem Bence-Jones'schen Eiweisskörper geben, geht in recht vielen Punkten auseinander; auch mein Fall zeigt seine Besonderheiten. Die Frage drängt sich auf: Umfasst der Begriff «Bence-Jones'scher Eiweisskörper» eine Gruppe von Substanzen, und haben die Untersucher verschiedene Körper in Händen gehabt, oder handelt es sich um einen einheitlichen Körper, bei dem nur unwesentliche Verschieden-

*) Serumglobulin beginnt bei einem Gehalt von 33 Volumprocenten Ammonsulfatlösung auszufallen, Serumalbumin bei einem solchen von 66. Das Eiweiss des Harns dagegen fiel zwischen 40 und 60 Volumprocenten aus.

heiten der Untersuchungsmethoden und -Bedingungen zu verschiedenen Resultaten und divergirenden Auffassungen geführt haben ?

Zur Entscheidung dieser Alternative ist ein genauer kritischer Vergleich der bisherigen Angaben und ein Hervorheben der Verschiedenheiten nicht zu umgehen.

Eingehendere chemische Untersuchungen liegen vor von Bence-Jones, Kühne, Huppert, Zeehuysen-Stockvis, Matthes, Rosin (Süssmann) und Ellinger.

Ein Vergleich unseres Körpers mit den von diesen Autoren beschriebenen ist freilich nicht in sämtlichen Punkten gleichmässig durchführbar, weil die einzelnen Forscher nicht alle Eigenschaften gleichmässig berücksichtigt und studirt haben; weil ferner manche Reactionen mit dem Urin, andere hingegen mit der Lösung der reinen Substanz angestellt worden sind; auch die Isolirung und Reindarstellung ist nach verschiedenen Methoden erfolgt. Nichtsdestoweniger lässt sich ein Vergleich zum Mindesten für eine Reihe der wichtigeren Reactionen durchführen, für welche scheinbare oder thatsächliche Differenzen in den Angaben vorliegen.

1. Die Coagulationstemperatur wird von den einzelnen Autoren verschieden angegeben und schwankte auch im einzelnen Fall. Die erste Trübung trat beim Erwärmen des Urins für gewöhnlich innerhalb der Grenzen von 50 bis 58 ° auf; in stark salzhaltigen Lösungen lag die Coagulationstemperatur meist tiefer, doch betonen die meisten Autoren (Kühne, Matthes, Ribbink, Ellinger), dass sie abhängig sei von Salz- und Säuregehalt. Das trifft auch für meinen Körper zu: im Allgemeinen sinkt (von einer gewissen Concentration an) [Pauli²⁵] mit zunehmendem Salzgehalt die Coagulationstemperatur.

2. Vollständigkeit der Lösung des Körpers bei 100 °. Auch hier liegen Differenzen in den Befunden vor. Bei Kühne sowohl wie bei Matthes war der Körper bei 100 ° im Urin vollständig gelöst, ebenso bei Ellinger. Die in der Siedehitze bei letzterem Autor noch vorhandene Trübung rührte von Nucleoalbumin her; bei Ribbink und Huppert, sowie

in dem Fall von Rosin-Süssmann jedoch wurde der Harn beim Kochen nicht völlig klar. Das Gleiche gibt auch Matthes an, sofern der Salzgehalt des Urins etwas grösser war. Mein Körper ging beim Kochen des Harns nie völlig in Lösung, aber doch zum grössten Theil, wenigstens im Beginn der Untersuchungen.

Diese geringfügigen Unterschiede würden an sich kaum zum Auseinanderhalten dieser Eiweisskörper nöthigen. Nun zeigte sich aber mein Eiweisskörper in den späteren Krankheitsstadien bei 100° im Harn völlig oder fast völlig unlöslich: er liess sich bei Siedetemperatur selbst bei neutraler Reaction in vollständig coagulirtem Zustand quantitativ niederschlagen, verhielt sich also wie ein gewöhnliches Harneiweiss. Trotzdem ist es nicht erlaubt, daraufhin meinen Eiweisskörper als von den früheren verschieden hinzustellen, denn es lag vollständig in unserer Hand, den Körper bei 100° löslich oder unlöslich zu erhalten und alle Uebergänge zwischen diesen Extremen herzustellen,

Wie es einerseits möglich war, durch eine geringe Aenderung der physikalischen Bedingungen (Verdünnen des Urins, langsames Erwärmen in einem langhalsigen Kolben) dem Körper die vorher deutliche Löslichkeit bei 100° zu nehmen, ebenso gelang es andererseits, durch einfache chemische, nicht eingreifende Massnahmen dem Körper die von Kühne und Matthes beobachtete völlige Löslichkeit bei 100° zu ertheilen. Das galt sowohl für eine chlorammonhaltige Lösung eines durch Alkoholfällung beim Sieden erhaltenen Niederschlags, wie auch für Urin, in dem Zusatz von Salmiak und besonders Harnstoff die vorher fehlende völlige Löslichkeit bei 100° auftreten liess.

Gleich wie bei manchen anderen Eiweisskörpern (Casein, Globulin) die Löslichkeit in Wasser bei gewöhnlicher Temperatur, wie bei ihnen und auch den Albuminen die Fällung in der Wärme, die Coagulationstemperatur und die Vollständigkeit der Abscheidung nicht eine diesen Körpern an sich zukommende Eigenschaft darstellt, sondern von Salzgehalt, Reaction, Anwesenheit anderer Stoffe sehr wesentlich

abhängt, ebenso gilt das für das verschiedene Verhalten des Bence-Jones'schen Körpers in der Siedehitze.

Die Kenntniss dieser die Löslichkeit der Eiweisse bedingenden äusseren Einflüsse hat durch Spiro's Entdeckung der Einwirkung einer Harnstofflösung auf die Coagulirbarkeit der «echten» Eiweissstoffe eine wesentliche Vervollständigung erhalten.

Einige dieser Einflüsse auf die Löslichkeit des Bence-Jones'schen Körpers habe ich oben beschrieben. Auf so erhebliche Verschiedenheiten, wie ich sie künstlich einführte, dürfte sich freilich das verschiedene Verhalten des im Urin gelösten Bence-Jones'schen Körpers nicht zurückführen lassen. Weder dürfte in den Fällen von Kühne und Matthes ein stärkerer Chlorammongehalt noch ein grösserer Harnstoffgehalt vorhanden gewesen sein, als in meinem Fall und bei den anderen Autoren. Im Harn combinirt sich der Einfluss der Reaction, der Dichte, des Gehaltes an Harnstoff und anderen stickstoffhaltigen oder stickstofffreien Extractivkörpern, derjenige der verschiedenen Salze in so unübersehbarer Weise, dass es ohne eingehende Analyse nicht möglich ist, festzustellen, welcher Einfluss im einzelnen Fall der vorwaltende und ausschlaggebende ist. Sowohl bei saurer wie auch bei alkalischer Reaction, nach Zusatz von Wasser oder ohne Verdünnung beobachtete ich die verschiedensten Grade der Löslichkeit; auch der Zusatz von Salzen u. s. w. zum Harn oder zu einer wässerigen Lösung gab gelegentlich abweichende Resultate.

Auch bei den anderen Autoren liegen ja ähnliche, mehr gelegentliche Beobachtungen vor, die darauf hinweisen, wie geringe, häufig dem Beobachter ganz entgehende Versuchsänderungen die Löslichkeitsverhältnisse des Körpers in überraschender Weise ändern. So sah Süssmann den Körper, der im Harn bei 100° einen Rückstand zurückliess, sich in einer reinen Lösung bei 100° völlig auflösen. Umgekehrt erhielt Kühne, dessen Körper sich im siedenden Harn und auch in wässriger Lösung sonst stets völlig löste, einmal eine schwach alkalische (!), fast salzfreie Lösung

(des durch Dialyse gereinigten Körpers), die beim Erwärmen coagulirte und beim Erhitzen auch nicht die mindeste Lösung des Niederschlages zeigte! (Zeitschr. f. Biologie, Bd. 20, S. 42). Ebenso werden Differenzen beobachtet in dem Verhalten einer salzfreien, durch Dialyse gewonnenen Lösung. Kühne, Ribbink, Matthes, Ellinger fanden, dass eine solche Lösung beim Erwärmen keine Fällung gibt;*) sie that es erst nach Zusatz von Säure oder Salz. In unserem Fall war auch ohne solchen Zusatz eine Ausfällung bei mittleren Wärmegraden stets zu erzielen.

Trotzdem also die Löslichkeit des Bence-Jones'schen Eiweisskörpers bei 100° eine recht wichtige Eigenschaft ist, trotzdem gerade sie, und nur sie, wenigstens bisher, zur Auffindung des Körpers im Urin geführt hat, ist sie doch keine wesentliche, immanente Eigenschaft: Das verschiedene Verhalten in den einzelnen Fällen nach dieser Richtung hin erlaubt nicht, eine Verschiedenheit dieser Körper zu statuiren.

3. Das Verhalten des Körpers gegen Sättigung seiner Lösungen mit Steinsalz. Die hier bei den Autoren zu Tage tretenden scheinbaren Differenzen finden ihre Erklärung darin, dass die Auflösung des Körpers im Harn sich eben anders verhält, als eine solche in neutraler Salzlösung. Ribbink findet beim Aussalzen mittelst Steinsalz im Harn weder bei 15° noch bei 40° eine Ausfällung, selbst nicht nach Tagen. Matthes constatirte nach mehreren Tagen im Harn eine Trübung; doch findet in der Lösung des reinen Körpers in Matthes' Fall nach Neumeister keine Fällung statt. Ellinger sah nach Zugabe einer gesättigten Kochsalzlösung eine allmähliche, unvollständige Fällung, Kühne beim gleichen Verfahren nur eine Trübung. Auch ich fand in dem sauren Urin durch Sättigen bei gewöhnlicher Temperatur eine unvollständige Ausfällung, in der Lösung des reinen Körpers keine Trübung. Genau das Gleiche gibt Süssmann an. Im Gegensatz zu diesen Angaben konnte Huppert seinen Körper

*) Kühne constatirte freilich, dass die Lösung alkalisch reagirte.

durch Kochsalz bei 35 bis 40° vollständig aussalzen, aber diese Aussalzung ist, wie Zeehuysen richtig vermuthet, keine reine Aussalzung, bei welcher der Körper nach Entfernung des Salzes wieder in Lösung geht, sondern eine Coagulation, die in Folge des hohen Salzgehaltes schon bei niederer Temperatur stattfindet. Auch unser Körper liess sich im Thermostaten bei 37° durch Kochsalz völlig abscheiden; dieser Niederschlag war coagulirt und in kaltem Wasser nicht mehr löslich, im Gegensatze zur echten Aussalzung durch Ammoniumsulfat; letztere, bei Zimmertemperatur und neutraler Reaction vorgenommen, ergab bei beliebig oft vorgenommener Wiederholung stets einen in Wasser löslichen Niederschlag. Auch im Verhalten zum Kochsalz bestehen somit keine wesentlichen Verschiedenheiten; eine neutrale Lösung des gereinigten Körpers ist durch Kochsalz bei Zimmertemperatur überhaupt nicht fällbar (Unterschied von der Proto- und Heteroalbumose).

4. Dialyse. Kühne und Matthes geben an, dass ihr Körper auch nicht in Spuren dialysire; das Gleiche trifft für den unseren zu. Ellinger hat seinen Körper durch Dialyse gereinigt, ohne freilich ausdrücklich zu bemerken, dass sein Körper gar nicht dialysabel sei. Nur Ribbink sah einen Theil durch künstliches Pergament hindurchgehen; doch liegt wohl die Möglichkeit vor, dass sein Pergament nicht vollkommen dicht gewesen sei, da sein Körper sonst ja mit den anderen im Wesentlichen übereinstimmte.

5. Verdauung mit künstlichem Magensaft. Dieselbe ist von Kühne, Matthes, Ribbink und von mir untersucht worden. Differenzen in den einschlägigen Angaben bestehen nicht so sehr in den nur von Matthes aufgefundenen Verdauungsprodukten eines Nucleins (denn dieses rührte wahrscheinlich, wie Neumeister angibt, und wie auch Matthes laut mündlicher Mittheilung nunmehr annimmt, von einem neben dem Bence-Jones'schen Körper im Urin vorhandenen Nucleoalbumin her), sondern vielmehr in dem Auffinden verschiedener Verdauungsprodukte seitens der einzelnen Forscher. Ich konnte eine Protalbumose, drei sogenannte

secundäre Albumosen, zwei Peptone nachweisen, isoliren und sie durch Prüfung ihrer Eigenschaften identificiren. Matthes und Ribbink geben nur an, dass der Körper sehr leicht und vollständig bei der Verdauung gelöst werde; der Erstere findet schon nach zehn Minuten Deuteroalbumosen und Pepton, der Andere gibt an, dass sein Körper zum grössten Theil in Pepton umgewandelt sei. Ausdrückliche Angaben über An- oder Abwesenheit primärer Albumosen fehlen. Kühne gibt an, dass nach 1—2 Stunden langer Verdauung seines Eiweisskörpers nur noch Pepton in der Lösung vorhanden gewesen sei; weder mit Salpetersäure, noch mit Essigsäure und Kochsalz erhielt er Niederschläge, so dass Körper, die unserer Protalbumose, unseren secundären Albumosen A und B gleichen, bei ihm gefehlt zu haben scheinen. Dieser Unterschied meinem Befund gegenüber ist wohl nur ein scheinbarer, denn da der Bence-Jones'sche Körper leicht verdaut wird, so kann ein Uebersehen der ersten Verdauungsprodukte zu jener Zeit um so leichter erfolgt sein, als ja schärfere Methoden der Trennung und Darstellung erst im Laufe der letzten Jahre bekannt geworden sind.

6. Albumosatbildung. Kühne versteht darunter eine Veränderung der Bence-Jones'schen «Albumose» durch Zusatz starker Laugen analog der Albuminatbildung. Um etwas Aehnliches handelt es sich bei der Acidalbuminbildung durch Mineralsäuren. In beiden Fällen werden die Körper verändert, so dass sie bei Neutralisation aus der Lösung niedergeschlagen werden. Die einzelnen Eiweisskörper verhalten sich dabei verschieden; die gereinigten Verdauungsalbumosen zeigen diese Eigenschaft nicht.

Kühne, Matthes, Ellinger und Süssmann geben übereinstimmend an, dass durch Neutralisation des angesäuerten oder mit Alkali versetzten Harnes der Körper unlöslich ausfalle. Ich kann das nur bestätigen. Namentlich Kühne legt, worauf ich noch zurückkomme, auf diesen Vorgang grosses Gewicht. Bei Huppert finden sich keine Angaben. Nur Ribbink konnte ein solches Neutralisations-

präcipitat nicht erzielen. Das lag vielleicht daran, dass er nicht genug Säure oder Alkali zum Harn zugesetzt hatte; in diesem Falle bleibt eben die sonst stets eintretende Fällung bei der Neutralisation aus (s. o. S. 207). Ebenso ist eine andere Differenz in den Angaben der Autoren aufklärbar: Löst man eine «coagulierte» Fällung des Bence-Jones'schen Körpers mittelst Soda und neutralisirt, so erhält man nach Huppert einen Niederschlag, dagegen bleibt die Lösung klar nach Neumeister und Ellinger, aber nur, wenn genügend Wasser zur Lösung vorhanden ist. Diese Angabe, diese specielle Bedingung, kann ich bestätigen.

7. Die Fällungsgrenzen beim Aussalzen mit Ammonsulfat gibt Ellinger mit 2 bzw. 4 ccm. an; ich fand sie zu 4 bzw. 6 ccm. im Harn, und etwas höher in einer dialysirten Lösung. Aber Ellinger's Angaben beziehen sich auf eine Lösung des isolirten Körpers, der vorher eine Coagulation durchgemacht hatte und erst wieder durch siedende Natriumcarbonatlösung in Lösung gebracht worden war, und für diesen Fall liegen die Fällungsgrenzen erheblich tiefer (ich fand sie gelegentlich bei 0,6 bzw. 2,2 ccm. cf. S. 213). Auch hier ist also keine thatsächliche Differenz zwischen dem Verhalten in Ellinger's und meinem Fall vorhanden.

Ich glaube durch den eingehenden Vergleich sichergestellt zu haben, dass die in den bisher untersuchten Fällen gefundenen «Bence-Jones'schen Körper» identisch sind, und komme nunmehr zu der wichtigeren Frage:

V. Welcher Klasse von Eiweisskörpern gehört der Bence-Jones'sche Körper an?

Die bisherigen Autoren haben den Körper übereinstimmend als Albumose aufgefasst. Der wesentliche Grund zu dieser Annahme liegt, wie bekannt, in der Löslichkeit der auf verschiedene Weise erzeugten Fällungen bei Siedetemperatur, ein Verhalten, das den echten Eiweisskörpern nicht zukommt, wohl aber den Verdauungsalbumosen.

Die Anschauungen der Untersucher lassen sich etwa folgendermassen präcisiren:

Kühne fasste das coagulirte unlösliche Präparat als Dysalbumose auf, offenbar aus Heteroalbumose entstanden, in welcher Form der Körper wohl im Harne vorhanden gewesen sein müsste. Deuteroalbumose konnte nach ihm, wenn überhaupt, so jedenfalls nur in Spuren beigemischt gewesen sein, so dass eine genaue Prüfung ihm nicht möglich war. Vielleicht sei auch, so gibt Kühne an, in dem wasserlöslichen spärlichen Extract des Coagulums etwas Protalbumose vorhanden gewesen. Zur Classification als Dysalbumose gab die Unlöslichkeit des durch Erhitzen gewonnenen Niederschlags in neutralen Salzlösungen Veranlassung. Auch Huppert bezeichnet seinen Körper als Heteroalbumose, etwa aus den gleichen Gründen wie Kühne; er legt auf das Unlöslichwerden des Körpers beim Aussalzen mit Kochsalz bei 35—40° den Nachdruck. Deuteroalbumose hielt er mit Sicherheit für ausgeschlossen, da durch Kochsalz allein ohne Zusatz von Essigsäure der Eiweisskörper vollständig ausgeschieden war; die Möglichkeit einer geringen Beimischung von Protalbumose lässt er zu. In dem ausführlichen Referate von Zeehuysen über Ribbink's Arbeiten findet sich keine bestimmte schärfere Rubricirung seiner Albumose. Matthes (Neumeister) und ebenso Ellinger weisen zwar auf die grosse Aehnlichkeit ihrer Körper mit den Verdauungsalbumosen hin, geben aber mit Bestimmtheit an, dass er mit keiner der bekannten identisch sei. Einmal scheidet ihn nach Matthes von letzteren die scheinbare Coagulation, die er zwischen 50 und 60° schon bei geringem Salz- und Säuregehalt erleidet; keine Verdauungsalbumose zeigt unter den gleichen Bedingungen dieses Verhalten. Ein weiterer Unterschied liege in Folgendem: bei 100° sind die durch irgend welche Reactionen erhaltenen Niederschläge der Albumosen auch bei grösstem Salzgehalt völlig löslich: bei dem Bence-Jones'schen Körper genüge schon mässige Erhöhung des Salzreichthums, um die Wiederauflösung der Fällungen in der Siedehitze zu verhindern. Speciell von der Heteroalbumose weicht er nach Matthes in der Hinsicht ab, dass er nicht wie jene bei der Dialyse sich ausscheidet.

Auf diese Momente legt auch Ellinger grossen Werth. Dieser Autor betont ferner die eigenthümliche «Albumosat»-Bildung bei dem Bence-Jones'schen Körper, die den Albumosen nicht zukommt, worauf schon Kühne nachdrücklich hingewiesen hat.

Die Gründe, die Matthes und Ellinger gegen die Identificirung mit einer «Verdaunungsalbumose» und speciell mit der Heteroalbumose ins Feld führen, sind durchaus stichhaltig und treffen auch für meinen Fall zu.

Seitdem in jüngster Zeit die Heteroalbumose eingehender erforscht ist, seitdem man nicht nur ihre Fällungsbedingungen kennt, sondern auch einige Bestandtheile derselben studirt hat, ist der Unterschied des Bence-Jones'schen Körpers von dieser Substanz noch viel stärker hervorgetreten.

Folgende Uebersicht, die keiner Erläuterung bedarf, zeigt die fundamentalen Unterschiede zwischen beiden Körpern:

	Kohlenhydrat-reaction	Spaltungsprodukte			Gesamt-N.	« Diamino- » Stickstoff
		bei der Pepsin-verdauung Protalbumose	bei der Spaltung mit Säure Glykoll	Tyrosin		
Heteroalbumose (des Fibrins)	—	—	+	wenig	17,98%	7,0% = 39% des Gesamt-N.
Bence-Jones-Körper	+	+	—	viel	15,57%	3,87% = 25% des Gesamt-N.

Nach den hie und da trügerischen Fällungsreactionen nicht nur, sondern auch nach der Zusammensetzung des Moleküls sind der Bence-Jones'sche Körper und die Heteroalbumose des Fibrins völlig verschiedene Körper.

In dem Falle von Rosin wird keine eingehende Analyse der Albumosennatur des Bence-Jones'schen Körpers gegeben, doch sagt Süssmann, sie hätte «nicht völlig mit Kühne's Albumosen übereingestimmt». Zu allen diesen Angaben ist freilich zu bemerken, dass sich der Vergleich mit den Verdaunungsalbumosen immer nur auf diejenigen des Fibrins beschränkt.

Wie aber auch die Autoren sich im Einzelnen aussprechen, so fassen sie doch ausnahmslos den Bence-Jones'schen Körper als eine Albumose auf.

Meine Beobachtungen zwingen zu dem Schluss, dass diese Annahme nicht richtig ist: ich muss den Körper als eine den echten Eiweisskörpern nahestehende Substanz bezeichnen.

Für seine Albumosennatur spricht nur ein äusserliches analytisches Merkmal: die Löslichkeit seiner durch verschiedene Mittel erhaltenen Niederschläge in der Hitze. Diese Eigenschaft ist es gewesen, die die bisher geltende Auffassung dieses Körpers als einer Albumose veranlasst hat. Sie ist aber einerseits hier, wie ich oben gezeigt habe, so abhängig von äusseren Bedingungen (Salzgehalt, Reaction, Dichte der Lösung, Gehalt an nicht salzartigen Körpern), dass sie unter Umständen ganz verloren gehen kann. Andererseits kann sie nach den Befunden Spiro's nicht zu einer Abtrennung von den coagulablen Eiweisskörpern genügen.

Gegen die Albumosennatur des Bence-Jones'schen Eiweisskörpers sprechen hingegen die drei folgenden wichtigen Gesichtspunkte:

1. Die vollständige Coagulirbarkeit unter gewissen Bedingungen in der Hitze und das leichte Unlöslichwerden des durch Alkohol oder durch Salz und Säure in der Kälte erhaltenen Niederschlags in Wasser und neutralen Salzlösungen. Für die Albumosen ist es charakteristisch, dass sie unter diesen Bedingungen löslich bleiben (cf. u. a. Neumeister S. 229 seines Lehrbuches, II. Auflage). Nur für die Heteroalbumose hat man bisher eine ähnliche «Coagulation», den Uebergang in eine unlösliche Modification angegeben, der jedoch nicht durch Erhitzen eintritt.

2. Die bekannten Albumosen zeigen keinerlei Andeutung von Syntonin- oder Albuminatbildung. Der Bence-Jones'sche Eiweisskörper hingegen besitzt diese Eigenschaft. Auf die darin liegende Aehnlichkeit mit den genuinen Eiweisskörpern hat schon Kühne (S. 224 der ersten Arbeit) hingewiesen. Ich halte diesen Punkt gleich ihm und Ellinger

für sehr bedeutungsvoll. Freilich wird diese Aehnlichkeit, wie auch Kühne hervorhebt, dadurch etwas eingeschränkt, dass diese durch Neutralisation gewonnenen Fällungen, ebenso wie auch die durch Alkohol und durch Erwärmen erzeugten Coagulationsprodukte sich bei Weitem nicht so unlöslich verhalten wie die bei gleicher Behandlung erhaltenen Produkte der echten Eiweisskörper.

3. Der Bence-Jones'sche Eiweisskörper liefert bei der Pepsinverdauung alle bisher bekannten primären und secundären Verdauungsprodukte der Eiweisskörper mit Ausnahme der Heteroalbumose, Dieser Mangel scheidet ihn nicht von den echten Eiweisskörpern; denn auch bei dem Eiweisspaarling des Caseins fehlt die Heteroalbumose.

Dieser letzte Punkt ist von ausschlaggebender Bedeutung. Nach Zunz²⁸⁾ und Pick^{14a)} stellen die Proto-, die Heteroalbumose und ein der Gruppe der «secundären Albumose B» angehöriger Körper*) neben anderen noch unbekanntem Substanzen die «primären» Spaltungsprodukte, die höchstzusammengesetzten Bausteine des Eiweissmoleküles, dar.

Da der Bence-Jones'sche Körper mit Sicherheit eines dieser primären Spaltungsprodukte, die Protalbumose neben anderen Albumosen abzuspalten gestattet, so ist er den echten Albumosen in Bezug auf Complicirtheit des Baues übergeordnet und steht darnach den echten Eiweisskörpern näher. Ihn einer bestimmten Gruppe derselben einzureihen, ist allerdings zur Zeit nicht möglich. Von allen unterscheidet ihn die relative Löslichkeit in der Hitze und die leichte Auflösbarkeit der Alkoholfällung durch verdünntes Ammoniak. Wenn er auch in dieser Hinsicht an die Histone erinnert, so kann er ihnen doch wegen des Abgangs der charakteristischen NH_3 -Reaction nicht beigezählt werden. Von den meisten genauer gekannten Eiweissstoffen unterscheidet ihn das Fehlen des Heteroalbumosencomplexes; letzteres wichtige Moment theilt er mit

*) Ein von dieser verschiedener (kohlenhydratfreier) Körper, der mit ihm zusammen ausgefällt wird, wird bei der Verdauung der Proto- und der Heteroalbumose erhalten (Pick); dieser ist kein primäres Spaltungsprodukt mehr.

dem Casein, doch trennt ihn von diesem das Fehlen des Phosphors und vor Allem die Anwesenheit eines Kohlenhydrat-complexes. Mit dem Globulin theilt er die etwas höheren «Fällungsgrenzen» der bei der Verdauung abgespaltenen «secundären Albumose A». Die Löslichkeit in salzfreiem Wasser, die Nichtfällbarkeit beim Einleiten von Kohlensäure wie durch Magnesiumsulfatsättigung sind leicht zugängliche analytische Unterschiede, die den Bence-Jones'schen Körper von den Globulinen sicher trennen.

Ob man unter diesen Verhältnissen noch an der bisher gebräuchlichen Bezeichnung «Bence-Jones'sche Albumose» und «Albumosurie» festhalten soll, erscheint ernster Erwägung werth. Am besten belässt man es wohl zunächst bei dem nichts präjudicirenden Namen «Bence-Jones'scher Eiweisskörper». Der für das klinische Bild so bequeme Ausdruck der Bence-Jones'schen «Albumosurie» könnte trotz gewisser Bedenken durch «Bence-Jones'sche Albuminurie» ersetzt werden.

VI. Bemerkungen über die Herkunft und Bildungsstätte des Bence-Jones'schen Körpers.

Ueber die Herkunft des Bence-Jones'schen Körpers, d. h. über den Ort der Bildung und die chemische Art seiner Entstehung lassen sich präzise Angaben zur Zeit nicht machen, immerhin aber einige Anhaltspunkte gewinnen. Die interessante Substanz entspricht keinem der bekannten in der Nahrung enthaltenen, bei der Verdauung entstehenden oder im Thierkörper vorkommenden Eiweissstoffe so nahe, dass man mit genügender Sicherheit den Schluss auf eine direkte Abstammung von einem derselben ziehen kann. Das ist um so bemerkenswerther, als die Menge, in der er im Harn auftritt, keineswegs unbedeutend ist. Einige Autoren fanden freilich nur kleinere Quantitäten im Harn, so Ellinger $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ ‰, Askanazy $\frac{1}{2}$ — $1\frac{1}{4}$ ‰, Huppert 3 ‰, Fitz 0,1—0,25 ‰, Süssmann 6 ‰, Matthes-Seegelken 4—6 ‰; grössere Mengen sind gefunden von Bozzolo 1 ‰, Ribbink 2 ‰, von mir 1,8—2,4 ‰. Bei Bence-Jones vollends «enthielt

der Urin fast so viel Eiweiss wie das Blutserum», nämlich 6,7 0/0. Die Tagesausscheidung betrug bei Huppert 6,7 g; bei Matthes 8 g, bei Süssmann 12 g, bei mir bis zu 36 g und bei Bence-Jones sogar 70 g. Ein Seitenstück zu diesen beiden Fällen stellt die Beobachtung von Bramwell und Noel Paton¹³⁾ dar; sie fanden im Urin einen anderen pathologischen Eiweisskörper, ein krystallisirendes Globulin,^{*)} dessen Menge am Tage bis zu 70 g stieg (1½—7 0/0 im Harn).

Diese Mengenverhältnisse erlauben auf den Ort, an dem die seltene Substanz entsteht, wenigstens einen negativen Schluss zu ziehen.

Zumeist hatte man bisher angenommen, dass der Bence-Jones'sche Körper in den das klinische Bild bedingenden pathologischen Geschwülsten, den Myelomen, entstände; man hat sein Vorkommen in diesen auch bis zu einem gewissen Grad von Sicherheit wahrscheinlich machen können (Ellinger); für seine Entstehung an diesem Ort aber ist sein Vorkommen daselbst nicht beweisend. Auf Grund meines und des Bence-Jones'schen Falles lässt sich die bisher geltende Annahme vielmehr direkt widerlegen: Die Quantität des im Harn erscheinenden Eiweisskörpers ist zu gross, als dass sie in jenen kleinen Geschwülsten entstanden sein könnte. — Die Gesamtmenge des in den Rippen enthaltenen Markes beträgt nicht mehr als ca. 200 g,^{**)} mit rund $\frac{1}{5} = 40$ g Eiweiss. Nur ein Theil dieses Markes ist durch Myelome ersetzt; dazu kommen freilich noch die in anderen Skeletttheilen vorhandenen Geschwülste, doch ist deren Gesamtgewicht nur in seltenen Fällen ein sehr erhebliches (über 500 g = 100 g Eiweiss), zum Mindesten nicht im Beginn, während der Entwicklung der Krankheit, und zu dieser Zeit erreichte die Ausscheidung des Bence-Jones'schen Körpers, wenigstens in meinem Fall, die höchsten Grade. — Dass in (relativ) so kleinen Geschwülsten täglich 36 und 70 g eines abnormen Eiweisskörpers gebildet werden sollten, eine

*) Huppert fasste ihn ursprünglich als Heteroalbumose auf, hat aber diese Anschauung später berichtigt.

***) Berechnet nach Dursy u. Friederich in Vierordt's Tabellen.

Menge, die das Eintrockengewicht der Neubildungen wahrscheinlich übertrifft, erscheint ganz ausgeschlossen. Wie kolossal müsste dann der Blut- und Saftstrom durch die wenig ausgebildeten Gefässe dieser Myelome sein, wie reichlich der Saft- und Lymphstrom durch das Gewebe derselben!

Eher könnte man vielleicht das Knochenmark des ganzen Körpers in toto, also auch in den nicht veränderten Partien, als Bildungsstätte des Bence-Jones'schen Körpers gelten lassen: der Fall von Askanazy, in dem ja das Knochenmark keine Myelome, sondern eine diffuse lymphadenoide Degeneration aufwies, liesse daran denken.

Führt nun diese quantitative Betrachtungsweise bezüglich des Ortes der Bildung zunächst nur zu einem mehr negativen Ergebniss, so leitet eine weitere Erwägung doch nun zu einigen Gesichtspunkten, die für die spätere Erforschung des Bildungsmateriales und vielleicht auch der Bildungsstätte einen Anhalt geben können.

Schon Noel-Paton hatte aus der abnorm grossen Ausscheidung seines krystallisirenden Globulins den Schluss gezogen, derselbe stamme aus der Nahrung, die «wahrscheinlich in der Leber in irgend einer Weise verändert sei». Seine Absicht, diese Annahme durch Stoffwechselversuche zu erhärten, war der schottische Autor auszuführen leider nicht in der Lage; auch in meinem Fall war es nicht möglich. Paton's Deutung aber scheint (abgesehen von der zweifelhaften Verlegung des Processes in die Leber) richtig; sie dürfte nicht nur für seinen, sondern auch für Bence-Jones' und meinen Fall zutreffen. Das geht aus folgender Betrachtung hervor: Es fand sich im Urin pro die:

Bei	Eiweiss	Anderer N	Gesammt-N	$\frac{\text{Eiweiss-N}}{\text{Gesammt-N}}$
Noel-Paton	68,9 g = 11,0 g N	16,2	27,2	41 %
Bence-Jones	70 g = 10,9 g N	< 12,0*)	< 23,0	47 %
Magnus-Levy	36 g = 5,6 g N	11,0	16,6	35 %

*) Diese Zahl lässt sich als «Maximalzahl» aus den übrigen Angaben Bence-Jones über Trocken-, Salz- und Eiweissgehalt des Harnes berechnen.

In keinem dieser Fälle handelte es sich um acute Körperconsumption, die Krankheit dauerte Jahre, die Kranken magerten nicht sehr rapide ab. Somit stammen die enormen Eiweissmengen des Urins, die $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ des gesammten Eiweissumsatzes betragen, nicht aus zerfallenem und nicht wieder regenerirtem Körpereiwiss, sondern direkt oder indirekt aus der Nahrung.*) Indirekt, wenn das Nahrungseiwiss erst in das normale Körpereiwiss übergeht und aus diesem der Bence-Jones'sche Körper entsteht; direkt, wenn letzterer unmittelbar aus den im Darmkanal durch Zerfall des Eiweisses gebildeten Spaltungsprodukten des Nahrungseiwisses aufgebaut wird, ohne die Zwischenstufen des normalen Körpereiwisses durchlaufen zu haben. In beiden Fällen bleibt die Alternative offen, ob es sich um ein normales oder ein pathologisches Produkt des Stoffwechsels handelt; es könnte sich ja um ein stets auftretendes Assimilations- oder Abbauprodukt handeln: Während dasselbe sonst zur Ernährung der Organe, zum Aufbau des Zellprotoplasmas dient oder eine Zwischenstufe im Abbau darstellt, würde es in unserem Fall aus unbekanntem Gründen vor Erreichung der Endformen in den Kreislauf übergehen und so der Ausscheidung verfallen; oder aber es erfolgt der Aufbau des Eiweisses resp. sein Abbau in abnormen Bahnen. Eine nähere Betrachtung dieser verschiedenen Möglichkeiten bietet mehrfaches Interesse, führt aber wegen Unzulänglichkeit des Thatachenmaterials nicht zu genügend gesicherten Schlüssen. Nur auf ein einzelnes Moment möchte ich daher noch kurz verweisen, da es auf experimenteller Grundlage ruht.

Wie W. Kühne erwähnt, sah Stokvis den Bence-Jones'schen Eiweisskörper nach intravenöser Einführung in

*) In letzter Instanz stammen ja schliesslich alle Bestandtheile des Körpers, alle seine Ausscheidungen aus der Nahrung, und nur der besondere Umfang der Ausscheidung, die zu einem sofortigen und andauernden Nachschub einen Ersatz fordert, nöthigt dazu, hier die Herkunft aus der Nahrung besonders zu betonen, und neben der indirekten, die für die gewöhnliche Anschauung nichts Verwunderliches an sich hat, auch eine direkte Herkunft aus dem Eiweiss der Nahrung ins Auge zu fassen.

den Harn übertreten. Ellinger führte die kolossale Menge von 5 g in 75 ccm. Sodalösung innerhalb zwei Minuten in die Vene eines kleinen Hundes von 6 kg Gewicht ein. Der innerhalb 24 Stunden aufgefangene Harn enthielt den Bence-Jones'schen Eiweisskörper nicht, gab mit Ammonsulfat gesättigt keinen Niederschlag, dagegen im Filtrat starke Biuret-reaction. Unter Vernachlässigung der summarischen Angabe von Stokvis geht daraus hervor, dass der Bence-Jones'sche Körper, selbst bei enormer Ueberschüttung des (gesunden Hunde-) Organismus, keineswegs im Organismus unangreifbar ist. Damit ist die naheliegende Vorstellung, dass die Ausscheidung dieser Eiweisssubstanz durch seine Unangreifbarkeit im Stoffwechsel bedingt sei, unwahrscheinlich geworden, wiewohl zuzugeben ist, dass die Verhältnisse beim Menschen und speciell beim Kranken möglicher Weise anders liegen als beim Hund.

Bei der Seltenheit typischer Fälle von Bence-Jones'scher Albuminurie ist eine baldige Aufklärung dieser und vieler anderer sich anschliessenden Fragen kaum zu hoffen.

Ebenso thut man gut, die Frage offen zu lassen, welcher Zusammenhang zwischen der Knochenmarksveränderung (Myelome — lymphadenoide Umwandlung) und dem Auftreten des Bence-Jones'schen Körpers im Urin besteht. Die Wahrscheinlichkeit einer irgendwie gearteten causalen Verknüpfung zwischen den beiden Processen wird nicht erschüttert durch den Umstand, dass bei den eben genannten Veränderungen des Knochenmarks in manchen Fällen und bei andersartigen Tumoren desselben der Harnkörper vermisst wird. In diesen Fällen könnte ja wohl der Körper gebildet oder der Weg zu seiner Bildung eingeschlagen worden sein, er aber oder seine Vorstufen der Spaltung und Verbrennung dauernd oder zeitweise zugänglich sein. (Von Stokvis und Matthes²⁷) werden Fälle berichtet, in denen das pathologische Eiweiss dauernd resp. zeitweise aus dem Urin verschwand). Fälle hingegen, in denen bei Bence-Jones'scher Albuminurie normale Beschaffenheit des Knochenmarks durch die Autopsie nachgewiesen wäre, stehen noch aus (Fall Fitz ist ohne Section!).

Litteratur.

I. Fälle in denen der Bence-Jones'sche Körper auftrat.

- 1) Bence Jones (Mac.-Intyre. Medical Chirurgical Transactions. 1850. Bd. 33). Philosophical Transactions of the royal society. London, 1848.
 - 2) W. Kühne (Stokvis), Ueber Hemialbumose im Harn. Zeitschr. f. Biol., Bd. XIX, S. 209.
W. Kühne und R. H. Chittenden, Ueber Albumosen. Zeitschr. f. Biol., Bd. XX, S. 11. cf. S. 40 ff.
 - 3) Huppert, Ueber einen Fall von Albumosurie. Prager med. Wochenschr. 1889. S. 35. (Klin. Beschreibung desselben Falls durch Kahler ibidem.)
 - 4) Stokvis, Ribbink, Zeehuysen. Referat in Maly's Jahresbericht. 1891. Bd. 21, S. 412. 1892. Bd. 22, S. 525. 1893. Bd. 22, S. 577.
 - 5) Matthes, Ueber Eiweisskörper im Urine bei Osteomalacie. Verhandl. d. 14. Congresses f. innere Medicin. 1896. S. 476.
cf. dazu Neumeister, Lehrbuch d. physiolog. Chemie. II. Aufl., S. 809. 1897 und
Seegelken, Ueber multiples Myelom u. s. w. Deutsches Archiv f. klin. Medicin. Bd. 58, S. 276. 1897.
 - 6) H. Rosin, Ueber einen eigenartigen Eiweisskörper etc. Berl. klin. Wochenschr. 1897. S. 1044, Nr. 48.
Ausführliche Beschreibungen:
Süssmann, Ueber einen neuen Fall von multipler Myelombildung u. s. w. Doctordissertation Leipzig. 1897.
Senator, Asthen. Lähmung, Albumosurie u. s. w. Berl. klin. Wochenschr. 1899. Nr. 8.
 - 7) Ellinger, Ueber das Vorkommen des Bence-Jones'schen Körpers im Harn u. s. w. Deutsches Archiv f. klin. Medicin. Bd. 62, S. 255. 1898
 - 8) Bozzolo, Sulla malattia di Kahler. La clinica medica italiana 1898. Citirt nach dem Referat im Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1898. S. 572.
 - 9) Naunyn, Deutsche med. Wochenschr. 1898. Vereinsbeilage S. 217.
 - 10) Bradshaw, Brit. medical Journal. 1898. Bd. I, S. 1136.
 - 11) Sternberg, Die Knochenerkrankungen in Nothnagel's Handbuch S. 58. (Autopsie nicht gemacht; Identification des Bence-Jones'schen Körpers durch Freund [Wien]).
 - 12) Askanazy, Ueber die diagnostische Bedeutung der Bence-Jones'schen Albumosurie. Deutsche med. Wochenschr. 1899. Vereinsbeilage S. 177.
 - 12a) Fitz, Albumosurie und Myxoedem. American Journal of med. science. 1898. Bd. I, S. 30.
-

13) Byron Bramwell u. Noel Paton. On a crystalline Globuline occurring in human Urine. Laboratory Reports of the royal College of Physicians. Edinburgh. Bd. 4. 1892. S. 47.

cf. dazu Huppert, Ueber einen Fall von Albumosurie. Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1896. Bd. XXII, S. 500. — Ueber den Noel Paton'schen Eiweisskörper. Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1898. S. 481.

14) Ernst P. Pick, Untersuchungen über die Proteinstoffe. II. — Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. XXIV, S. 246.

14a) Ernst P. Pick, Zur Kenntniss d. pept. Spaltungsprodukte des Fibrins. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXVIII, S. 219.

15) J. Pohl, Ein neues Verfahren zur Bestimmung des Globulins im Harn u. s. w. Archiv f. exper. Pathol. und Pharmakol. Bd. XX, S. 426.

16) Hausmann Walter, Ueber die Vertheilung des Stickstoffs im Eiweissmolekül. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXVII, S. 95.

17) Alexander F., Zur Kenntniss des Caseins u. seiner peptischen Spaltungsprodukte. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXV, S. 411.

18) Umber F., Die Spaltung des krystallin. Eieralbumins u. s. w. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXV, S. 258.

19) Kauder, Zur Kenntniss der Eiweisskörper des Blutserums. Archiv f. exper. Pathol. und Pharmakol. Bd. XX, S. 411.

20) Spiro, Ueber Nachweis u. Vorkommen des Glykokolls. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXVIII, S. 174.

21) F. Hofmeister, Ueber die Darstellung von krystallinischem Eieralbumin etc. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XIV, S. 165.

22) Gürber, Krystallisation des Serumalbumins. Sitzungsbericht der Würzburger physiol.-med. Gesellschaft. Bd. XXVIII. 1894.

23) Moraczewski, Ueber das Verhalten des Caseins u. s. w. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXI, S. 71. — Ueber das Verhalten des Vitellins u. s. w. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXV, S. 252.

24) Pappenheim, Ueber Lymphämie u. s. w. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXXIX, cf. S. 139.

25) Pauli, Die physikal. Zustandsänderungen der Eiweisskörper. Pflüger's Archiv. Bd. LXXVIII, S. 315.

26) S. Gruzewska, Krystallisation des Blutalbumins. Compt. rend. de l'Acad. des sciences 128, 1535.

27) Matthes, Discussion zum Vortrag von Magnus-Levy, Congress für innere Medicin 1900.

28) Zunz, Ueber den quantitativen Verlauf per peptischen Eiweisspaltung. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXVIII, S. 132.