

Weiterer Beitrag zur Frage nach der Assimilation des Nahrungseiweißes im tierischen Organismus.

Von

Emil Abderhalden, Casimir Funk und E. S. London. St. Petersburg.

Aus dem I. Chemischen Institute der Universität Berlin und dem pathol. Laboratorium des K. Instituts für experimentelle Medizin in St. Petersburg.

(Der Redaktion zugegangen am 13. März 1907.)

Mit den Fortschritten unserer Erkenntnis des Aufbaues der Proteine sind unsere Fragestellungen im Gebiete des Eiweißstoffwechsels immer schärfere geworden. Es galt in aller erster Linie festzustellen, in welchen Beziehungen die Proteine der Nahrung zu denjenigen des tierischen Organismus stehen. Daß normalerweise gänzlich unveränderte Nahrungseiweißstoffe den Magendarmkanal passieren, dürfte wohl ganz allgemein als ausgeschlossen betrachtet werden. Wie allen anderen organischen Nahrungsstoffen geht der Assimilation der Nahrungseiweißstoffe ebenfalls ein mehr oder weniger weit gehender Abbau voraus. Der Darm mit seinen Fermenten vermittelt gewissermaßen zwischen Außen- und Innenwelt. Er bewirkt, daß in gewissem Sinne keine unveränderten Nahrungsstoffe jenseits des Darmes zirkulieren. Die Körperzellen erhalten stets eine in engen Grenzen gleichartig zusammengesetzte und aufgebaute Nahrung.¹⁾ Der Mechanismus der Assimilation der zirkulierenden Nahrungsstoffe durch die einzelnen Körperzellen nimmt unter dieser Vorstellung eine einfachere und zugleich einheitliche Gestalt an. Die einzelne Körperzelle ist in gewissem Sinne ganz unabhängig von der Art der von außen aufgenommenen Nahrung. Für sie kommt nur die Zusammensetzung des Blutes und speziell des Plasmas in Betracht und für dessen gleichartigen Bestand sorgt der Magen-

¹⁾ Vgl. Emil Abderhalden, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 1906, S. 285 ff. und 680 ff.

darmkanal mit seinen Fermenten. Die Körperzelle ist mit all ihren Werkzeugen — ihren Fermenten — auf ein ganz spezifisches, immer vorhandenes und in weiteren Grenzen nie wechselndes Nahrungsgemisch eingestellt. Ein weitgehender Abbau der von außen zugeführten organischen Nahrungsstoffe bis zu den geeigneten Bausteinen ermöglicht dem Organismus den Aufbau seiner eigenen Nahrungsstoffe, der Rohmaterialien, aus denen jede einzelne Zelle die Gebilde formt, die sie einesteils zum Ausbau ihres Protoplasmas braucht und die ihr anderenteils als Brennstoffe dienen. Diese müssen ja schließlich auch so aufgebaut sein, daß die Zelle sie mit ihren Fermenten angreifen kann.

Sprechen auch mannigfache Beobachtungen über die normale Verdauung für die eben entwickelte Vorstellung der Umwandlung von Nahrungseiweiß in Körpereiwweiß, so darf doch nicht übersehen werden, daß die aus den bis jetzt vorliegenden Versuchen gezogenen Schlußfolgerungen zum größten Teil indirekt erschlossene sind. Der eine von uns hat deshalb früher schon in Gemeinschaft mit Franz Samuely¹⁾ festzustellen versucht, ob es gelingt, jenseits des Darmes spezifisch aufgebaute Nahrungseiweißstoffe nachzuweisen. Der einfachste Weg zur Lösung dieses Problems erscheint die Untersuchung der Körpereiwweißstoffe bei ganz verschiedenartiger Zusammensetzung der zugeführten Nahrungseiweißstoffe zu sein. Man könnte z. B. ein Versuchstier während längerer Zeit mit Gliadin, einem an Glutaminsäure besonders reichen Eiweißstoff, füttern und eines mit Eieralbumin. Dieses Protein besitzt einen mindestens dreimal geringeren Gehalt an der genannten Aminosäure als das Gliadin. Wir haben auf diesen einfachen Versuch verzichtet, weil seine Durchführung eine ausgedehnte Kenntnis der Zusammensetzung der Körpereiwweißstoffe bestimmter Tiere voraussetzen würde. Außerdem würden Abweichungen in der Zusammensetzung der Körpereiwweißstoffe unter dem Einfluß einer bestimmten Ernährung keine einwandfreie Erklärung zulassen, weil die Zahl der Möglichkeiten, die einer solchen Änderung zugrunde liegen können,

¹⁾ Emil Abderhalden und Franz Samuely, Beitrag zur Frage nach der Assimilation des Nahrungseiweißes im tierischen Organismus. Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 193, 1905.

eine sehr mannigfaltige ist. Ein negativer Ausfall derartiger Versuche, d. h. ein Ausbleiben der Beeinflussung der Körpereiwweißstoffe unter dem Einfluß eines bestimmt zusammengesetzten Nahrungseiweißes vermag uns keinen klaren Einblick in die Frage nach der Art des resorbierten resp. des in den Körper aufgenommenen Eiweißes zu geben, denn einmal wird das zugeführte Eiweiß offenbar wenigstens zum Teil rasch verbrannt und andererseits macht das momentan in Zirkulation befindliche Eiweiß gegenüber dem abgelagerten Zelleiweiß einen nur geringen Bruchteil aus. Daß die Körperzellen selbst von der Art des Nahrungseiweißes in ihrem Aufbau abhängig sein sollten, ist nach allen unseren Erfahrungen wohl kaum anzunehmen. Wir haben aus diesen Gründen einen direkteren und sicheren Weg zur Entscheidung der Frage nach der Art der Beziehungen zwischen Nahrungseiweiß und resorbiertem Eiweiß einzuschlagen versucht. Es sind vor allem zwei Möglichkeiten in Betracht zu ziehen. Es ist denkbar, daß das Nahrungseiweiß im Magendarmkanal zwar weit abgebaut wird, daß jedoch eine spezifische, auswählende Synthese der je nach der Art der Nahrungseiweißstoffe verschiedenen Abbauprodukte nicht stattfindet. Da wir bis jetzt keinen Grund zur Annahme haben, daß die resorbierten Proteine, resp. deren aufgenommene Abbauprodukte einen anderen Weg der Resorption einschlagen, als den der Blutbahn, so müßten wir im angenommenen Falle uns vorstellen, daß die Eiweißkörper des Blutes in ihrer Zusammensetzung von derjenigen der Nahrungseiweißstoffe abhängig sind. Wählen wir z. B. einen Nahrungseiweißstoff, der in seiner Zusammensetzung gänzlich von derjenigen der Bluteiweißstoffe unter normalen Ernährungsbedingungen abweicht, so müßten wir erwarten, daß entsprechend dem Aufbau des Nahrungseiweißes an Aminosäuren eine Verschiebung im Gehalt an einzelnen Bausteinen bei den Bluteiweißstoffen nachweisbar sein würde. Ist dagegen die Annahme richtig, daß dem Abbau der Nahrungseiweißstoffe im Magendarmkanal ein unter den vorhandenen Abbauprodukten auswählender, ein für allemal festgelegter Aufbau des ersten Körperiweißes folgt, dann dürfte ein solcher Einfluß nicht stattfinden, dann müßte man unter allen Umständen stets ein und

dasselbe Eiweiß im Blute und speziell im Plasma finden, denn dieses führt ja das vom Darm abgegebene Eiweiß fort.

So einfach die Fragestellung zu liegen scheint, so kompliziert ist doch ihre Beantwortung. Die Eiweißkörper des Blutes werden nicht nach jeder Mahlzeit einfach ersetzt, sondern das neu aufgenommene Eiweiß, das ja nur einen kleinen Bruchteil des gesamten Bluteiweißes ausmacht, vermischt sich mit dem schon vorhandenen Eiweiß. Da ferner die Resorption der Abbauprodukte aus dem Darmkanal nur schubweise in kleineren Portionen stattfindet und offenbar in kürzester Zeit entsprechend dem aufgenommenen Eiweiß eine Verbrennung von Proteinen erfolgt, so könnte uns leicht eine gleichbleibende Zusammensetzung der Bluteiweißstoffe irreführen und eine Aufnahme von abweichend aufgebautem Eiweiß verdecken. Der Umstand, daß wir keinen Beweis dafür haben, daß irgend ein Eiweißstoff des Blutes einheitlich zusammengesetzt ist, erschwert die Lösung der ganzen Frage noch in besonders hohem Maße. Wäre diese Unsicherheit nicht vorhanden, so könnte man ja ganz einfach alle die verschiedenen Eiweißstoffe des Blutes abscheiden und so auf fremdartige Bestandteile des Blutes fahnden.

Wir heben diese Schwierigkeiten, die sich einer glatten Lösung des eben aufgeworfenen Problems entgegenstellen, absichtlich hervor, um darzulegen, daß wir die Schwächen unserer Versuche wohl kennen. Wir betrachten auch die folgende Untersuchung nur als einen weiteren Beitrag zu der gestellten Frage und hoffen auf den erhaltenen Resultaten erfolgreich weiterbauen zu können, um die ganze Beweisführung noch zwingender zu gestalten.

Der erste nach dieser Richtung ausgeführte Versuch hatte ergeben, daß eine Beeinflussung der Zusammensetzung der Eiweißkörper des Serums durch Gliadin nicht nachweisbar ist. Der Glutaminsäuregehalt des Gemisches von Proteinen des Serums blieb konstant, trotzdem mit der Nahrung ein Protein, das Gliadin, in großen Mengen zugeführt worden war, das einen mindestens dreimal so großen Glutaminsäuregehalt besitzt als die Serum-eiweißkörper unter normalen Bedingungen. Um das Versuchstier zu einer möglichst umfangreichen Eiweißassimilation zu zwingen

und um vor allem zu bewirken, daß das resorbierte Eiweiß im Blute möglichst zur Geltung komme, war der Versuch an einem Pferde ausgeführt worden, welches längere Zeit gehungert hatte und dem vor der Fütterung mit einem bestimmten Eiweißkörper von bekannter Zusammensetzung große Mengen Blut entzogen worden waren. Hatten wir auf diese Weise möglichst günstige Versuchsbedingungen geschaffen, so hinderte anderseits die Art des Versuchstieres unter den bestehenden Verhältnissen eine strenge Durchführung eines vollständigen Stoffwechselversuches. Wir möchten natürlich gerne wissen, ob das Versuchstier die großen Mengen von verabreichtem Eiweiß auch resorbiert und verwertet hat. Es unterliegt nun keinem Zweifel, daß dies in weitem Umfange der Fall war, denn die nach der Verfütterung entleerten Scybala ließen kein unresorbiertes Eiweiß erkennen.

Wenn wir uns eingedenk all der möglichen Einwände recht vorsichtig ausdrücken wollen, dann dürfen wir aus dem vorliegenden Versuche am Pferde nur den Schluß ziehen, daß die gewonnenen Resultate nicht gegen unsere Vorstellung sprechen, daß das Nahrungseiweiß normalerweise im Magendarmkanal in seine Bausteine zerlegt wird, und daß dann der Darm mit all seinen Zellarten oder die Leber aus diesem Baumaterial körpereigenes Eiweiß, und zwar zunächst die Plasmaeiweißkörper, aufbaut und diese an das Blut weitergibt. Der genannte Versuch besagt nichts über den speziellen Ort der Eiweißsynthese. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß sie bereits im Darmgewebe selbst vor sich geht, es wäre jedoch auch denkbar, daß die Leber diese Aufgabe übernimmt. Da das Blut, das wir im genannten Versuche untersuchten, aus der Carotis entnommen war, so ließ sich der Ort der von uns indirekt erschlossenen Eiweißsynthese nicht feststellen. Wir haben aus diesem Grunde die Versuche wiederholt und zwar wählten wir als Versuchstiere Hunde, deren Leber durch Anlegung einer Eckschen Fistel bis auf die Arteria hepatica aus dem Kreislauf ausgeschaltet war. Wir verglichen die Zusammensetzung der Eiweißkörper des Plasmas und der Blutkörperchen des Blutes derartig operierter Tiere unter verschiedener Art der Eiweißnahrung. Das eine

Tier war vor der Blutentziehung mit Fleisch gefüttert worden, das andere mit Eiereiweiß und das dritte mit Gliadin. Leider sind wir vorläufig nicht imstande, mit rein chemischen Methoden eine genauere Charakteristik der einzelnen Eiweißstoffe zu geben. Wir müssen uns vorläufig mit der Bestimmung der einzelnen Aminosäuren begnügen. Aber selbst hier treten in der Beurteilung der Resultate Einschränkungen auf, indem einmal die Methoden der Isolierung der einzelnen Aminosäuren durchaus keine quantitativen sind. Einzig Tyrosin, Glykokoll und Glutaminsäure lassen sich von den Monoaminosäuren in engen Grenzen genau bestimmen. Auch für die Bestimmung der Diaminosäuren haben wir nach den bekannten Untersuchungen von Kossel und Kutscher recht brauchbare Methoden, vorausgesetzt, daß die einzelnen Diaminosäuren für sich isoliert und bestimmt werden. Der Versuch, den Monoaminosäuren die durch Phosphorwolframsäure fällbaren Produkte als Summe der vorhandenen Diaminosäuren gegenüberzustellen, hat ganz unzuverlässige Werte ergeben. Es werden zu leicht und unter bestimmten Bedingungen immer Monoaminosäuren mitgerissen. Wir haben uns unter diesen Umständen vorläufig damit begnügt, die Menge der Glutaminsäure im Plasma- und Blutkörpercheneiweiß zu bestimmen, und zwar deshalb, weil die Menge dieser Aminosäure die größten Unterschiede im verfütterten Eiweiß aufwies. Das Eieralbumin enthält 8,0—9,0% Glutaminsäure, Fleisch nach unseren Bestimmungen auf Eiweiß berechnet 10,5% (der Gehalt des Muskeleiweißes an Glutaminsäure ist in Wirklichkeit größer, weil wir den Eiweißgehalt aus dem Stickstoffgehalt des verwandten Fleisches berechnet haben und so zu hohe Zahlen für Eiweiß unserer Bestimmung zugrunde legten), das Gliadin enthält 36—37% Glutaminsäure, d. h. mehr als dreimal soviel als die genannten Eiweißstoffe. Im Serumalbumin des Pferdes fanden wir 7,7% und im Serumglobulin 8,5% Glutaminsäure. Wir bemerken, daß die angegebenen Mengen an Glutaminsäure sich auf das absolut reine Präparat beziehen, an Rohprodukten fanden wir natürlich stets viel höhere Werte. Um allen Mißverständnissen vorzubeugen, wollen wir auch hier hervorheben, daß wir die quantitative Bestimmung

einer bestimmten Aminosäure durchaus nicht als genügendes Kriterium für die Identität bestimmter Eiweißkörper betrachten. Es ist klar, daß zwei total verschieden aufgebaute Proteine dieselben Mengenverhältnisse an Aminosäuren aufweisen können. Es kommt selbstverständlich z. B. die Anordnung und Aufeinanderfolge der verschiedenen Aminosäuren bei der totalen Hydrolyse der Proteine nicht zum Ausdruck. Es ist nicht daran zu zweifeln, daß die Isolierung bestimmter Komplexe von Aminosäuren durch die partielle Hydrolyse¹⁾ der Proteine uns einen großen Schritt in der Beurteilung der Verwandtschaft bestimmter Proteine vorwärts bringen wird. Leider ist unsere Kenntnis nach dieser Richtung noch nicht so erweitert, daß wir im vorliegenden Falle mit Erfolg den Nachweis komplizierterer Abbauprodukte unserer Untersuchung hätten zugrunde legen können. Wir müßten uns damit begnügen, denjenigen Baustein möglichst quantitativ festzustellen, welcher in der Menge seines Vorkommens in den zu vergleichenden Proteinen den größten Unterschied bot.

Wir müssen bei der Beurteilung der Resultate unserer Versuche die eben angeführten Verhältnisse mit berücksichtigen. Ein positiver Ausfall, d. h. eine Zunahme des Glutaminsäuregehaltes der Bluteiweißkörper würde unbedingt für eine Abhängigkeit des Aufbaues derselben von der Art der zugeführten Nahrungseiweißstoffe sprechen, dagegen läßt ein negativer Ausfall keine so scharfe Schlußfolgerung zu. Immerhin dürfen wir höchstwahrscheinlich einen Unterschied machen zwischen chemisch verschiedenen Proteinen und in weiterem Sinne der organischen Nahrungsstoffe überhaupt und Unterschieden, die physiologisch zum Ausdruck kommen. Man kann sich wohl vorstellen, daß z. B. zwei Proteine, welche chemisch einen ganz verschiedenen Aufbau besitzen, physiologisch doch identisch sind, denn nach unserer Auffassung des Wesens der Verdauung kommt es in erster Linie darauf an, ob das zuge-

¹⁾ Vgl. Emil Fischer und Emil Abderhalden, Bildung eines Dipeptids bei der Hydrolyse des Seidenfibroins, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Jg. XXXIX, S. 752, 1906, und Bildung von Dipeptiden bei der Hydrolyse der Proteine, Ebenda, Jg. XXXIX, S. 2315, 1906.

fürte Eiweiß von den Fermenten des Magendarmkanals in genügender Weise abgebaut werden kann, d. h. ausschlaggebend ist der Umstand, daß schließlich dieselben Abbauprodukte vorhanden sind, aus denen der Organismus sein eigenes Eiweiß aufbauen kann. Ebenso wird es für die jenseits des Darmes liegenden Körperzellen im wesentlichen darauf ankommen, ob das ihnen zugeführte Eiweiß für sie angreifbar und aufnehmbar ist. Wir können uns in diesem Sinne sehr wohl vorstellen, daß einerseits Eiweißkörper, welche anscheinend in ihrer Zusammensetzung sich ganz ähnlich sind, physiologisch ein sehr verschiedenes Verhalten zeigen, weil Kombinationen von Aminosäuren vorliegen, welche für die Fermente des tierischen Organismus nicht oder nur schwer angreifbar sind, während andererseits anscheinend recht verschieden zusammengesetzte Proteine doch so aufgebaut sein können, daß schließlich dieselben Endprodukte unter der Wirkung der Magendarmfermente entstehen, so daß dann in letzter Linie vielleicht nur noch die Mengenverhältnisse der einzelnen Abbauprodukte zu einander ausschlaggebend für eine mehr oder weniger gute Ausnutzung beim Wiederaufbau zu Körpereiweiß sein werden. Wir möchten mit diesem Gedankengang nur festlegen, daß wir einstweilen nicht unbedingt ein großes Gewicht auf die bei gleichem Gehalt an Aminosäuren eventuell möglichen Isomeren zu legen brauchen und die Feststellung, daß im vorliegenden Falle der Gehalt der Bluteiweißkörper an Glutaminsäure auch bei Gliadinfütterung gleich bleibt, doch zu bestimmten Schlüssen führen kann. Man kann wohl durch kein Beispiel aus der Lehre vom Eiweißstoffwechsel in so klarer Weise den hohen Wert der synthetischen Versuche Emil Fischers in der Eiweißchemie und der partiellen Hydrolyse der Proteine klarlegen. Wir treffen noch überall auf weite Lücken bei jeder Frage nach dem Eiweißab- und -aufbau im tierischen Organismus, auf Lücken, die einzig und allein durch weitere Kenntnisse in der Eiweißchemie und vor allem durch die Auffindung neuer Methoden zur Charakterisierung höherer Abbauprodukte aus den Proteinen überbrückbar sind.

Nach dieser Klarlegung der Grenzen, die den Resultaten

unserer Versuche durch den jetzigen Stand unserer Kenntnisse über den Eiweißstoffwechsel und auch der Eiweißchemie gezogen sind, geben wir im folgenden einen Überblick über die ausgeführten Versuche.

1. Mit Fleisch gefütterter Hund mit Eckscher Fistel.

Das 9780 g wiegende Tier wurde am 5. Oktober 1906 operiert. Am 6. X. hungerte es und erhielt dann bis zum 17. X. Milch und Brot. Am 17. X. wurden 200 g Pferdefleisch verfüttert. Es zeigten sich keine Vergiftungserscheinungen. Fünf Stunden nach der Fütterung wurden 145 ccm Blut entnommen. Bis zum 25. X. erhielt das Versuchstier wiederum Milch und Brot. Am 25. X., 9 Uhr morgens, wurden 600 g Fleisch verfüttert. Gegen 7 Uhr abends zeigten sich deutliche Vergiftungserscheinungen. Es wurden 250 ccm Blut abgelassen und 500 ccm 0,85%ige Kochsalzlösung eingespritzt. Am folgenden Tag erholte sich das Versuchstier vollständig. Es erhielt nun bis zum 4. XI. wieder Milch und Brot. Am 4. XI. selbst gaben wir ihm 800 g Fleisch. Gegen 10 Uhr abends, nachdem deutliche Vergiftungserscheinungen zu beobachten waren, wurde das Tier völlig entblutet. Das Tier wog am Schlusse des Versuches 10800 g.

Das Blut wurde stets mit Ammonoxalat ungerinnbar gemacht und dann das Plasma von den Blutkörperchen durch Zentrifugieren getrennt. Letztere wurden zur Trockene eingedampft. Im Plasma fällten wir durch Koagulation die Hauptmasse der Proteine. Das Filtrat der ausgeschiedenen Eiweißkörper wurde für sich auf tiefere Eiweißabbauprodukte verarbeitet.

2. Mit Gliadin gefütterter Hund mit Eckscher Fistel.

Die Operation fand am 2. XII. 06 statt. Das Gewicht des Tieres betrug 9780 g. Am 3. XII. hungerte es, am 4. XII. erhielt es 400 ccm Milch. Am 5. XII. wurden 100 g Gliadin, 10 g Fett und 5 g Zucker verfüttert. Das Versuchstier nahm diese Nahrung gerne auf. Am 6. XII. gaben wir 150 g Gliadin, 200 ccm Fleischbouillon. Die Nahrung mußte künstlich eingeführt werden.

7. XII. 10 Uhr morgens 75 g Gliadin, 100 ccm Fleischbouillon, künstlich eingeführt. Um 5 Uhr mittags Vergiftungserscheinungen. Völlige Blutentziehung. Gewicht des Hundes am Schlusse des Versuches 8900 g.

3. Mit Eiereiweiß gefütterter Hund mit Eckscher Fistel.

8. XII. 06. Operation. Gewicht des Versuchstieres 14300 g.

9. XII. 06. Hungertag.

10. XII. 06. 400 ccm Milch.

11. XII. 06. 300 g Eiereiweiß 20 g Fett. Frißt gerne.

12. XII. 06. 465 g Eiweiß, 20 g Fett. Künstliche Fütterung.

13. XII. 06. 580 g Eiereiweiß. Künstlich zugeführt.

14. XII. 06. morgens 9 Uhr 300 g Eiereiweiß und um 2 Uhr mittags weitere 250 g. Um 7 Uhr traten deutliche Vergiftungserscheinungen auf. Das Tier wurde nun völlig entblutet. Gewicht des Tieres 13450 g.

Bei einer zweiten Versuchsreihe, deren Anordnung die folgenden Tabellen wiedergeben, haben wir die Stickstoffbilanz verfolgt, um genau zu wissen, ob das zugeführte Eiweiß resorbiert worden ist.

Von diesen 6 Versuchstieren verarbeiteten wir die Bluteiweißkörper gemeinsam, d. h. Blutkörperchenbrei, Plasmaeiweiß und dessen Filtrat der entsprechend gefütterten Tiere wurden gemischt. Bevor wir auf die Verarbeitung dieser Produkte eingehen, sei noch erwähnt, daß in allen Fällen der Urin auf Eiweißabbauprodukte und auf Eiweiß selbst untersucht wurde. Auf erstere fahndeten wir mit β -Naphthalinsulfochlorid. In keinem einzigen Fall gelang es, irgendwie in Betracht kommende Reaktionsprodukte zu fassen, dagegen enthielt das Eieralbumintier geringe Eiweißmengen im Urin, und zwar isolierten wir aus dem während 5 Fütterungstagen gesammelten Urin (Hund 6) 3,1 g Trockensubstanz. Das Produkt war durch Hitzkoagulation gewonnen worden und gab die gewöhnlichen Eiweißreaktionen. Wir vermuteten, daß Eiereiweiß den Darm passiert habe und zur Ausscheidung gelangt sei. Um zu einer Entscheidung zu gelangen, immunisierten wir ein Kaninchen mit Eiereiweiß. Das

Serum dieses Tieres gab keinen Niederschlag mit dem Eiweiß aus dem Harn. Auch aus der Niere selbst dürfte das ausgeschiedene Eiweiß nicht hergestammt haben, denn wir erhielten mit dem Serum eines Kaninchens, welchem eine Hundenierenemulsion dreimal eingespritzt worden war, auch keine Reaktion. Es lag somit offenbar assimiliertes Serumeiweiß vor, das aus irgend einem Grunde zur Ausscheidung gelangt war.

Wir wollen gleich erwähnen, daß wir unser Problem nicht nur mit rein chemischen Methoden in Angriff genommen haben, sondern auch mit Hilfe der biologischen Reaktion festzustellen suchten, ob unter den gegebenen Verhältnissen Nahrungseiweiß, wenn auch in geringer Menge, in das Blut übergeht.

Fleischfütterung.

Hund 4.

Datum	Nahrungs-N g	Harn		Kotgetrocknet		Gesamt-N-Ausfuhr g	N-Bilanz g	Gewicht g	Bemerkungen
		Menge ccm.	N g	Menge g	N g				
4 XI.06	—	—	—	—	—	—	—	21.700	Operation
5	—	—	—	—	—	—	—	20,600	Hunger
6	—	—	—	—	—	—	—	19,950	Milchfütterung (500 ccm)
7	22,76	795	21,30	—	—	21,30	+ 1,46	20,210	654 g Pferdefleisch (frisst gerne)
8	27,94	682	23,71	—	—	23,71	+ 4,23	19,840	793 g Fleisch (frisst weniger gern)
9	21,42	678	17,35	41,7	1,3	18,65	+ 2,77	19,410	600 g Fleisch (künstlich eingeführt)
Summa	72,12	2155	62,36	41,7	1,3	63,66	+ 8,46		
Mittel	24,04	718	20,79	19,3	0,43	21,22	+ 2,82		

Am 10. November wurden morgens um 10 Uhr 500 g Fleisch eingeführt. Um 6 Uhr abends bei Vergiftungserscheinungen völlige Blutentziehung.

Gliadinfütterung.

Hund 5.

Datum	Nahrungs- N g	Harn		Kot getrocknet		Gesamt- N-Aus- fuhr g	N- Bilanz g	Ge- wicht g	Bemerkungen
		Menge ccm	N g	Menge g	N g				
17. XI.06	—	—	—	—	—	—	—	24,200	Operation
18.	—	—	—	—	—	—	—	23,450	Hunger
19.	—	—	—	—	—	—	—	22,580	Milchfütterung (600 ccm)
20.	24,76	1380	17,94	—	—	17,94	+ 6,82	22,970	Kuchen aus 200 g Gliadin 25 g Fett 20 g Zucker (frisst gerne)
21.	27,86	1478	19,65	18,1	0,93	20,58	+ 7,28	23,100	Kuchen aus 225 g Gliadin 20 g Fett 10 g Zucker (frisst gerne)
22.	24,76	1355	20,84	25,3	1,21	22,05	+ 2,71	23,030	200 g Gliadin mit Fleisch- extrakt künst- lich eingeführt
Summa	77,38	4213	58,43	43,4	2,14	60,57	+ 16,81		
Mittel	25,79	1404	19,48	14,5	0,71	20,19	+ 5,60		

Am 23., um 10 Uhr, waren die Vergiftungserscheinungen schon ausgesprochen. Um 10 $\frac{1}{2}$ Uhr verabreichten wir 150 g Gliadin in Fleisch-extrakt aufgeköcht künstlich. Um 2 $\frac{1}{4}$ Uhr nachmittags wegen drohender Erscheinungen (starke Krämpfe) völlige Blutentziehung.

Eiereiweißfütterung.

Hund 6.

Datum	Nahrungs- N g	Harn		Kot getrocknet		Gesamt- N- Aus- fuhr g	N- Bilanz g	Ge- wicht g	Bemerkungen
		Menge ccm	N g	Menge g	N g				
16. XII. 06	—	—	—	—	—	—	—	21,900	Operation
17.	—	—	—	—	—	—	—	21,100	Hunger
18.	—	—	—	—	—	—	—	20,200	Milchfütterung (500 ccm)
19.	8,51	950	7,81	—	—	7,81	- 0,70	20,650	460 g Eiereiweiß 30 „ Fett (frißt gerne)
20.	14,54	925	9,40	27,5	0,85	10,25	+ 4,29	20,570	735 g Eiereiweiß 20 „ Fett (künstl. Fütterung)
21.	15,98	789	8,16	—	—	8,16	+ 7,82	20,270	843 g Eiereiweiß (künstl. Fütterung)
22.	13,52	716	6,93	49,6	1,25	8,18	+ 5,34	20,110	732 g Eiereiweiß (künstl. Fütterung)
Summa	52,55	3380	32,30	77,1	2,10	34,40	+ 18,15		
Mittel	13,14	845	8,07	19,3	0,53	8,60	+ 4,54		

Am 23., um 9 Uhr morgens, 351 g Eiereiweiß künstliche
und „ 4 „ nachmittags, 378 „ „ „ Fütterungen.

Um 9 1/2 Uhr abends weit fortgeschrittene Vergiftungserscheinungen:
Völlige Blutentziehung.

Selbstverständlich hätte ein positiver Ausfall der Reaktion unsere weiteren Untersuchungen nicht beeinflusst, denn die eventuell in die Blutbahn eingedrungenen Spuren von Nahrungseiweiß würden nicht ausschließen, daß dessen Hauptmasse vollständig umgewandelt ist. Die beiden Methoden, die rein chemische und die biologische, ergänzen sich, und bei der Beurteilung der gestellten Frage kommen die Resultate beider Untersuchungen in Betracht. Wir können gleich vorwegnehmen, daß die sorgfältige Ausführung der biologischen Reaktion

zum Resultate führte, daß das Blut weder nach Fleisch- noch nach Eialbumin- noch nach Gliadinfütterung eine spezifische Reaktion gab.

Zu diesen Versuchen wurde ein weiterer Hund operiert und zwar am 11. Januar 1907. Sein Körpergewicht betrug 16 000 g. Am 12. I. hungerte er. Körpergewicht 15 900 g.

13. I. 600 ccm Milch. Körpergewicht 15 350 g.

14. I.—20. I. 400 ccm Milch, 300 g Weißbrot (täglich). Körpergewicht 15 850—16 600 g.

21. I. 600 ccm Milch + 4 g Glykokoll.¹⁾ Körpergewicht 16 600 g.

22. I.—23. I. 400 ccm Milch + 300 g Weißbrot (täglich). Körpergewicht 16 250—16 250 g.

24. I. 600 ccm Milch + 4 g Leucin. Körpergewicht 16 250 g.

25. I.—27. I. 400 ccm Milch + 300 g Weißbrot (täglich). Körpergewicht 16 750—17 050 g.

28. I. 600 ccm Milch + 5 g d-Alanin. Körpergewicht 16 750 g.

29. I.—2. II. 400 ccm Milch + 300 g Weißbrot (täglich). Körpergewicht 16 750—16 850 g.

3. II., morgens 9 Uhr, 730 g Eiereiweiß (künstlich eingeführt). Körpergewicht 16 750 g.

Mittags 3 Uhr: 100 ccm Blut entnommen für Ammoniakbestimmung und 30 ccm Blut für die biologische Reaktion.

4. II.—5. II. 400 ccm Milch + 300 g Weißbrot (täglich). Körpergewicht 16 800—17 150 g.

6. II., morgens 8¹/₂ Uhr, 200 g Gliadin in Fleischbouillon aufgekocht (künstlich eingeführt).

Mittags 2 Uhr: Erbrechen. Das Erbrochene enthielt 0,45 g Stickstoff.

Mittags 2¹/₂ Uhr: Entziehung von 100 ccm Blut zur Ammoniakbestimmung und von 40 ccm Blut zur Ausführung der biologischen Versuche.

7. II.—11. II. 400 ccm Milch, 300 g Weißbrot (täglich). Körpergewicht 16 250—17 200 g.

¹⁾ Die Aminosäuren wurden zu anderen, später mitzuteilenden Versuchen verfüttert.

12. II., morgens 9 Uhr: 1 kg Fleisch.

13. II., morgens 9 Uhr: 1 kg Fleisch: abends 10 Uhr: 600 g Fleisch.

Das Versuchstier erhielt noch zwei Tage (Körpergewicht 16 900—16 600 g) Fleisch, bis leichte Vergiftungserscheinungen auftraten. 6 Stunden nach der letzten Fütterung (600 g Fleisch) wurden 100 ccm Blut zur Ammoniakbestimmung und 40 ccm zur Ausführung der biologischen Reaktion entnommen.

Die Ammoniakbestimmungen¹⁾ ergaben folgendes Resultat:

100 ccm Blut	enthielten nach	Eiereiweißfütterung	1,53 mg NH ₃ .
100 „ „	„ „	Gliadinfütterung	1,19 „
100 „ „	„ „	Fleischfütterung	1,35 „

Zur Ammoniakbestimmung wurde das Blut 6 Stunden bei 22—37° C. bei einem Druck von 1,8—2,0 cm nach Zufügung von 25 ccm einer halbgesättigten Sodalösung und von 50 ccm einer gesättigten Kochsalzlösung destilliert.

Die biologische Reaktion fiel in allen Fällen negativ aus. Wir werden den Versuch nochmals mit einem Hunde wiederholen, bei dem auch die Art. hepatica unterbunden ist.

Zu den biologischen Versuchen verwendeten wir drei Kaninchen. Kaninchen I erhielt im Zwischenraum vom 1. XII. 06 bis 5. I. 07 10 subkutane Einspritzungen einer sterilisierten Emulsion von 5 g Gliadin in 100 ccm 0,85 %iger Kochsalzlösung in steigenden Dosen von 3—15 ccm.

Kaninchen II erhielt vom 12. XII. 06 bis 5. II. 07 7 subkutane Injektionen einer sterilisierten Emulsion von 5 g Eier-

¹⁾ Vgl. hierzu: M. Nencki, J. Pawlow und J. Zaleski, Über den Ammoniakgehalt des Blutes und der Organe und die Harnstoffbildung bei Säugetieren. Arch. f. experim. Path. u. Pharmak., Bd. XXXVII, S. 26, 1895. — M. Nencki u. J. Pawlow, Zur Frage über den Ort der Harnstoffbildung bei den Säugetieren. Arch. f. experim. Path. u. Pharmak., Bd. XXXVIII, S. 215, 1896. — S. Salaskin, Über das Ammoniak in physiologischer und pathologischer Hinsicht und die Rolle der Leber im Stoffwechsel stickstoffhaltiger Substanzen. Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 449, 1898. — S. Salaskin u. J. Zaleski, Über den Einfluß der Leberextirpation auf den Stoffwechsel bei Hunden. Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 517, 1900.

eiweiß in 100 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung. Die injizierten Mengen stiegen von 5—18 ccm.

Kaninchen III behandelten wir in gleicher Weise mit 10 Injektionen einer 5%igen Fleischemulsion in 0,85%iger Kochsalzlösung. Der Versuch dauerte vom 4. XII. 06 bis 5. II. 07. Wir begannen mit 5 ccm und stiegen bis 15 ccm.

Zunächst stellten wir die Wirksamkeit der erhaltenen Sera fest, indem wir zu gleichen Mengen (je 0,5 ccm) von rohem Eiereiweiß, Fleischextrakt und Gliadinextrakt 2—4 Tropfen des entsprechenden Serums hinzubrachten. Wir bewahrten zunächst die Proben bei gewöhnlicher Temperatur auf, später bei 37° C. Nach einer Stunde und mehr ergab sich folgendes Resultat:

1. Im Röhrchen, das Eiereiweiß + 2 Tropfen Serum von dem mit Eiereiweißemulsion immunisierten Kaninchen enthielt, zeigte sich auf der Oberfläche des Eierklares ein dichter Niederschlag.

2. Gliadinextrakt + Gliadinserum: Wolkige Trübung.

3. Fleischextrakt + Fleischserum: Keine deutliche Reaktion.

Dieser Versuch wurde noch dreimal mit demselben Resultate wiederholt. Die Kontrollproben ohne Zusatz der spezifischen Sera blieben klar. Dasselbe war der Fall, als zu den Kaninchensera die entsprechenden Sera von den Eckschen Hunden zugefügt wurden, d. h. das Serum des Gliadinkaninchens reagierte z. B. nicht mit dem Serum desjenigen Eckschen Fistelhundes, der mit Gliadin gefüttert worden war. Die Proben blieben ganz klar und zeigten keine Spuren einer Trübung.

Wir kommen nun zu den Resultaten der chemischen Untersuchung. Es waren folgende Fragen zu beantworten. 1. Enthält das Plasma Eiweißabbauprodukte, sogenannte Albumosen, Peptone, Aminosäuren? 2. Zeigt der Glutaminsäuregehalt der Bluteiweißkörper Unterschiede?

Zur Entscheidung der ersten Frage benützten wir das Filtrat der durch Koagulation des Plasmas abgeschiedenen Eiweißkörper. Die Gerinnung war durch Erhitzen bei schwach essigsaurer Lösung bewirkt worden. Das Filtrat des Koagulums

sah milchig aus. Es gab deutliche Biuretprobe und enthielt unzweifelhaft noch Eiweiß. Bei Zusatz einiger Tropfen verdünnter Essigsäure und Aufkochen der Lösung erhielt man sofort Abscheidung von Eiweiß. Es gelang jedoch nicht, auf diese Weise alles Eiweiß bis auf die letzte Spur zu entfernen. Wir möchten hier aus einer reichen Erfahrung heraus bemerken, daß wir sehr oft beobachtet haben, daß unter scheinbar ganz gleichen Bedingungen das Eiweiß aus dem Plasma und dem Serum bald spielend und sofort durch Hitzekoagulation zu entfernen ist, bald bleibt beständig etwas Eiweiß zurück. Ist es aus irgend einem Grunde nicht gelungen, das gesamte Eiweiß sofort zu fällen, dann hält es sehr schwer, die letzten Spuren zu entfernen. Wir zweifeln nicht daran, daß ein Teil der Angaben, daß das Blut normalerweise sogenannte Albumosen enthalte, einfach auf ungenügende oder unzweckmäßige Entfernung des Eiweißes zurückzuführen sind.

Für unsere Versuche war es sehr wichtig, auch die letzten Spuren von Eiweiß zu entfernen. Hier kam uns eine sehr treffliche Methode zu Hilfe, die kurz vor dem Beginn unserer Versuche von den Herren L. Michaelis und P. Rona¹⁾ ausgearbeitet worden war. Sie beruht auf der Ausfällung von Eiweiß aus seiner Lösung durch Mastix. Wir hielten uns genau an die von den genannten Forschern gegebenen Vorschriften. Eine Modifikation war nur insofern angebracht, als wir den Alkoholzusatz stark vermindern konnten, weil wir die weitaus größte Eiweißmenge schon durch Koagulation entfernt hatten. Wir verarbeiteten 500 ccm des Eiweißfiltrates. Nach Zusatz der Mastixmilch trat auf Zugabe einiger Tropfen von 10%iger Essigsäure und einer 10%igen Lösung von Kupferacetat bald Fällung ein. Der Niederschlag wurde sofort abfiltriert, das Filtrat durch Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit und wieder filtriert. Das Filtrat dampften wir nun unter vermindertem Druck auf etwa 400 ccm ein. Sämtliche Reaktionen auf Eiweiß fielen negativ aus, vor

¹⁾ Leonor Michaelis u. Peter Rona. Eine Methode zur Entfernung von Kolloiden aus ihren Lösungen, insbesondere zur Enteiweißung von Blutserum. Biochemische Zeitschrift, Bd. II, S. 219, 1906, und Beitrag zur Frage nach der kolloidalen Natur der Albumoselösungen. Ebenda, Bd. III, S. 109, 1907.

allem ließ sich auch nicht die Spur einer Biuretreaktion feststellen.

Einen Teil der Lösung schüttelten wir unter den bekannten Bedingungen mit β -Naphtalinsulfochlorid. Beim Ansäuern der alkalischen, vom Äther abgetrennten Lösung trat bei den Gliadin- und Fleischhunden nur eine leichte Trübung auf, einzig bei den mit Eiereiweiß gefütterten Tieren erhielten wir einen filtrierbaren Niederschlag. Er enthielt neben wenig β -Naphtalinsulfamid eine gegen 240° schmelzende Verbindung. Ihre Menge reichte nicht hin, um ihre Zusammensetzung festzustellen.

Um eventuell bei der Mastixfällung mitgerissene Produkte zu gewinnen, wurde nach den Mitteilungen von Rona und Michaelis der Niederschlag im Soxhlet 3 Stunden mit Chloroform extrahiert und der geringe Rückstand mit Wasser ausgekocht. Die Auskochung gab keine Spur einer Biuretreaktion.

Aus diesen Untersuchungen dürfen wir den Schluß ziehen, daß im Plasma unserer Versuchstiere keine nachweisbaren Mengen von Abbauprodukten aus Eiweiß zirkulierten. Eine Ausnahme machen vielleicht diejenigen Hunde, welche mit Eiereiweiß gefüttert worden waren. Sogenannte Albumosen waren jedenfalls in keinem Falle nachweisbar. Es bestätigt dieser Befund frühere Versuche des einen von uns mit Carl Oppenheimer,¹⁾ daß selbst auf der Höhe der Verdauung «Albumosen» im Blute völlig fehlen können und vielleicht fast immer fehlen.

Es sei in diesem Zusammenhang auch erwähnt, daß der eine von uns mit Peter Rona²⁾ vor längerer Zeit eine größere Untersuchung über den Gehalt des Blutes an Eiweißabbauprodukten angefangen hat. Es wurde zunächst auf «Albumosen» geachtet und der Reststickstoff nach sorgfältiger Dialyse bestimmt. Es sind Hunde untersucht worden, welche gehungert hatten, und solche, welchen eben eine reichliche Mahlzeit gegeben worden war. Es gelang uns in keinem einzigen Falle,

¹⁾ Emil Abderhalden u. Carl Oppenheimer, Über das Vorkommen von Albumosen im Blute. Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 155, 1904.

²⁾ Die Resultate dieser durch äußere Umstände verzögerten Untersuchungen werden später ausführlich mitgeteilt. Emil Abderhalden.

«Albumosen» aufzufinden. Beachtenswert ist auch der Umstand, daß der Reststickstoff bei den einzelnen Tieren trotz des sehr verschiedenen Ernährungszustandes nur innerhalb geringer Grenzen schwankte.

Wir halten den Nachweis, daß sicher keine größeren Mengen von Eiweißabbauprodukten im Blute zirkulierten, für sehr wichtig zur Deutung unserer Versuche. Es wäre ja wohl denkbar gewesen, daß zwar das Eiweiß in seiner Zusammensetzung «konstant» bleibt, daß dagegen die bei der Synthese des Körper-eiweißes nicht verwendbaren Spaltprodukte des Nahrungseiweißes im Blut frei zirkulieren. Selbstverständlich wagen wir nicht zu behaupten, daß überhaupt keine Eiweißabbauprodukte im Blute vorhanden waren. Bei der großen Verdünnung, mit welcher der Körper arbeitet, muß man mit derartigen präzisen Schlüssen vorsichtig sein!

Bestimmung der Glutaminsäure.

1. Proteine des Plasmas.

Wie schon erwähnt, schieden wir die Eiweißkörper des Plasmas durch Hitzekoagulation bei schwach essigsaurer Lösung ab. Das Koagulum wurde abfiltriert, mit Wasser sorgfältig ausgewaschen und dann bei 100° getrocknet. Zur Bestimmung der Glutaminsäure benutzten wir je 50 g des trockenen Eiweißes. Einen aliquoten Teil trockneten wir bis zur Gewichtskonstanz bei 100° und bestimmten dann den Aschengehalt. Die Glutaminsäure selbst wurde als Chlorhydrat abgeschieden und ihre Menge auf das bei 100° getrocknete, aschefreie Eiweiß berechnet. Die Bestimmung der Glutaminsäure ist keineswegs eine so einfache, wie man nach den Angaben der Literatur glauben könnte. So leicht es ist, ihre Abscheidung zu bewirken, so schwer ist es, sie vollständig rein zu erhalten und sie zugleich vollständig zu gewinnen. Vor allem darf nicht außer acht gelassen werden, daß auch das Phenylalanin ein schwer lösliches Hydrochlorat bildet. Gewöhnlich scheidet es sich jedoch offenbar unter den herrschenden Bedingungen nicht mit dem Glutaminsäurechlorhydrat aus, wenigstens begegneten wir ihm nur bei der Glutaminsäurebestimmung in dem Blutkörperchen-

brei. Bei der ersten Krystallisation fällt die salzsaure Glutaminsäure gewöhnlich als dicker Brei aus, der sicher noch andere Produkte einschließt. Es läßt sich das Glutaminsäurechlorhydrat in diesem Zustand auch schwer trocknen, während das reine, gut krystallisierte Produkt über Schwefelsäure und Kalk sehr bald Gewichtskonstanz zeigt. Bei der Abscheidung der Glutaminsäure als Hydrochlorat ist von größter Bedeutung, daß die salzsaure Lösung nicht zu stark eingeengt wird. Aus einem dicken Sirup krystallisiert die salzsaure Glutaminsäure schlecht. Auch darf die Lösung nicht stark gefärbt sein. Wir arbeiteten stets mit ganz hellgelben Lösungen. Da die Glutaminsäure einen ganz eigenartigen Geschmack besitzt, läßt sich ihr Vorhandensein in den Mutterlaugen sehr leicht feststellen.

Wir schicken diese Bemerkungen voraus, um über unsere Wertangaben zu orientieren. Wir haben die salzsaure Glutaminsäure gewöhnlich dreimal gewogen und zwar erstens das Rohprodukt, dann das einmal umkrystallisierte Salz und endlich die dritte Krystallisation. Es gelang uns schließlich, das salzsaure Salz in Form sehr großer, völlig farbloser Krystalle zur Abscheidung zu bringen. Die Hydrolyse der Proteine erfolgte durch 6 stündiges Kochen mit der 3fachen Menge rauchender Salzsäure (spez. Gewicht 1,19). Die braunviolett gefärbte Lösung wurde filtriert. Es verblieb etwas Melanin auf dem Filter. Es gelang nicht, durch Kochen mit Tierkohle die Lösung aufzuhellen. Wir dampften deshalb die salzsaure Lösung unter vermindertem Druck bis zur Trockene ein und lösten den Rückstand in einem Liter Wasser. Durch Schütteln mit Kupferoxydul entfernten wir die Hauptmenge der noch vorhandenen Salzsäure. Aus der filtrierten Lösung fällten wir das gelöste Kupfer mit Schwefelwasserstoff und erhielten dann nach dem Filtrieren eine fast farblose Lösung. Sie wurde unter vermindertem Druck stark eingeengt und dann mit gasförmiger Salzsäure nahezu gesättigt. In wenig Minuten begann die Abscheidung von Krystallen. Sie wurden nach 48 Stunden auf Koliertuch abgenutscht, mit eiskalter starker Salzsäure gewaschen und dann nach scharfem Abpressen im Vakuumexsikkator über Kalk und Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Bei wei-

terem Stehen der eingeengten Mutterlauge erhielten wir noch weitere Krystallisationen. Die letzte Mutterlauge schmeckte kaum noch nach Glutaminsäure und gab auch nach 14 Tagen keine Abscheidung mehr.

Die für jede Bestimmung vereinigten, getrockneten Glutaminsäurechlorhydratfraktionen wogen, auf 100 g aschefreies, bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknetes Eiweiß berechnet, beim mit Fleisch gefütterten Tiere 17,0 g, beim mit Eiereiweiß gefütterten Hunde 16,5 g und beim Gliadinhund 18,0 g.

Nach der ersten Umkrystallisation verblieben beim Fleischhund 15,2 g, beim Eiereiweißhund 15,0 g und beim Gliadinhund 15,7 g.

An völlig reinem, gut krystallisiertem Glutaminsäurechlorhydrat wurden schließlich erhalten: beim Fleischhund 14,8 g, beim Eiereiweißhund 14,7 g und beim Gliadinhund 15,5 g.

Beim Eiereiweißhund führten wir eine Doppelbestimmung aus und erhielten 15,1 g reines Glutaminsäurechlorhydrat.

Ein Blick auf die erhaltenen Resultate belehrt, daß ein irgendwie in Betracht kommender Unterschied im Glutaminsäuregehalt der Plasmaeiweißkörper bei der verschiedenen Art der Eiweißnahrung nicht nachweisbar ist. Dieses Resultat steht im Einklang mit dem bei den früheren Versuchen am Pferde erhaltenen. Das mit Gliadin gefütterte Tier weist einen etwas höheren Wert an Glutaminsäurechlorhydrat auf. Der Unterschied ist jedoch so gering, daß er ganz gut der Methode zur Last fallen kann. Wir dürfen auch nicht vergessen, daß die Plasmaeiweißkörper ein Gemisch von gewiß vielen verschiedenartigen Proteinen darstellen, die unter sich sicher in ihrer Zusammensetzung nicht übereinstimmen. Eine Verschiebung des Mischungsverhältnisses kann natürlich in engen Grenzen auch Unterschiede im Gehalte an Glutaminsäure bedingen. Jedenfalls haben wir nach dem Ausfall dieses Versuches keinen Anhaltspunkt für die Annahme, daß unverändertes oder nur wenig abgeändertes Nahrungseiwiss zur Resorption gelangt ist. Vielmehr stützt der erhobene Befund unsere Vorstellung, daß im Magendarmkanal ein weitgehender Abbau der Proteine der Resorption und Assimilation vorausgehen muß.

2. Proteine der Blutkörperchen.

Die Blutkörperchen wurden durch Zentrifugieren möglichst vollständig vom Plasma getrennt und dann der ganze Brei bei 100° getrocknet. Auch hier trockneten wir einen aliquoten Teil bei 100° bis zur Gewichtskonstanz und bestimmten den Aschegehalt.

Zur Hydrolyse verwendeten wir je 100 g Blutkörperchentrockensubstanz. Sie wurden mit der 3fachen Menge rauchender Salzsäure 6 Stunden am Rückflußkühler gekocht und nach dem Abkühlen und Verdünnen mit Wasser das abgeschiedene Melanin + Hämatin abfiltriert. Der Versuch, durch Einengen der Lösung und Einleiten von gasförmiger Salzsäure Glutaminsäure als Chlorhydrat zur Abscheidung zu bringen, führte zu keinem einwandfreien Resultate. Es erfolgte nämlich eine sehr beträchtliche Krystallisation (ca. 40 g). Sie enthielt neben Glutaminsäurechlorhydrat salzsaures Phenylalanin und wahrscheinlich noch die salzsauren Salze anderer Aminosäuren (Histidin). Der Versuch, das Glutaminsäurechlorhydrat zu reinigen, führte uns zu der Überzeugung, daß dies nur unter Verlusten durchführbar war. Für unsere Versuche war es jedoch von größter Wichtigkeit, möglichst wenig unkontrollierbare Fehler durch die Methoden einzuführen, und so entschlossen wir uns, der Glutaminsäurebestimmung eine Entfernung der mit Phosphorwolframsäure fällbaren Produkte vorausgehen zu lassen. Zu diesem Zwecke wurden 100 g Blutkörperchentrockensubstanz mit 1 l 25%iger Schwefelsäure 14 Stunden am Rückflußkühler in beständigem Kochen erhalten. Nach erfolgter Filtration wurde die klare Lösung mit 5 l Wasser verdünnt und die gesamte Flüssigkeit mit soviel Schwefelsäure versetzt, bis ihr Gehalt an dieser 5% betrug. Nun fällten wir mit einer 50%igen Lösung von Phosphorwolframsäure, bis keine Fällung mehr zu beobachten war. Der Niederschlag wurde abgenutscht, mit 5%iger Schwefelsäure wiederholt gewaschen und schließlich scharf abgepreßt. Im Filtrat fällten wir den Überschuß an Phosphorwolframsäure mit Baryt und dessen Überschuß mit Schwefelsäure.

Nach der Filtration des schwefelsauren Baryts verblieb

eine kaum gefärbte, wasserklare Flüssigkeit. Sie wurde unter vermindertem Druck stark eingeeengt und dann mit gasförmiger Salzsäure gesättigt. Die erste Krystallisation der salzsauren Glutaminsäure war noch recht unrein und ließ sich schwer trocknen. Ihre Menge betrug beim Fleischhund 26,4 g, beim Eiereiweißhund 25,2 g und beim Gliadinhund 25,6 g. Das gewogene Produkt war noch nicht ganz trocken. Es wurde in Wasser gelöst und mit Tierkohle aufgeköcht. Die zweite Krystallisation ergab folgende Mengen von Glutaminsäurechlorhydrat berechnet auf 100 g, bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknetes, aschefreies Eiweiß: für den Fleischhund 16,8 g, für den Eiereiweißhund 16,2 g und für den Gliadinhund 17,5 g. Die dritte Krystallisation ergab sehr schöne, große, farblose Krystalle, die sich sehr leicht trocknen ließen. Die Gesamtausbeute an reinem Glutaminsäurechlorhydrat betrug:

1. Für den Fleischhund 14,5 g, 2. für den Eiereiweißhund 14,8 g und für den Gliadinhund 15,9 g.

Auch die Proteine der Blutkörperchen zeigen nach diesen Resultaten ziemlich sicher keine nachweisbare Abhängigkeit von der Art des Nahrungseiweißes, wenigstens wagen wir es nicht, dem höheren Glutaminsäuregehalt beim Gliadinhund nach dieser Richtung eine größere Bedeutung zuzulegen. Der Unterschied erscheint uns für eine solche Annahme doch zu gering. Wir werden nicht verfehlen, an Hand weiterer Versuche noch genauer festzustellen, ob nicht doch vielleicht den Blutkörperchen eine viel bedeutendere Rolle im Nahrungstransport zukommt, als wir annehmen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß der gefundene, etwas erhöhte Glutaminsäuregehalt beim Gliadintier für eine solche Auffassung spricht. Wir müssen diese Frage noch offen lassen.

Überblicken wir das Gesamtergebnis unserer Untersuchungen an Hunden mit Eckscher Fistel, so ergibt sich, daß mit Hilfe der biologischen Reaktion kein Nahrungseiweiß weder bei Fleisch-, noch bei Eiereiweiß- noch bei Gliadin-Fütterung im Blut nachweisbar ist. Ferner läßt sich mit chemischen Methoden kein Einfluß der Zusammensetzung des Nahrungseiweißes speziell an Glutaminsäure auf die Proteine des Plasmas fest-

stellen. Auch das Proteingemisch der Blutkörperchen scheint nicht beeinflußt zu werden. Eiweißabbauprodukte waren im Plasma in keinem Falle nachweisbar.

Wir erinnern an die in der Einleitung besprochenen Schwierigkeiten einer präzisen Schlußfolgerung aus den erhobenen Befunden und beschränken uns darauf, zu betonen, daß bis jetzt keine Beobachtung vorliegt, welche dagegen spricht, daß das Nahrungseiweiß vor seiner Resorption so weit abgebaut wird, daß es im Körper sofort zu körpereigenem Eiweiß aufgebaut werden kann.¹⁾ Dieser Aufbau erfolgt nach unseren Untersuchungen höchstwahrscheinlich direkt in der Darmwand, denn die Leber kommt bei unseren Versuchen kaum in Frage, sie stand ja mit dem allgemeinen Kreislauf nur noch durch die Arteria hepatica in Verbindung. Ist unsere Vorstellung richtig, dann kommt der Darmwand eine viel bedeutendere Rolle im gesamten Haushalte des tierischen Organismus zu, als man bis jetzt dachte. Die Eiweißresorption und -assimilation tritt damit in eine gewisse Parallele mit den entsprechenden Vorgängen beim Fette. Wiederum erhebt sich die Frage, was entstehen aus den resorbierten Bausteinen zunächst für Eiweißstoffe. Vieles spricht dafür, daß das erste Assimilationsprodukt eben die Plasmaeiweißkörper sind. Die Darmzellen sezernieren diese gewissermaßen in die Blutbahn. Ist diese Auffassung richtig, dann müssen namentlich dann, wenn das resorbierte Gemisch von Bausteinen in seiner Zusammensetzung von derjenigen der ersten Assimilationsprodukte abweicht, Abfallprodukte entstehen, d. h. es müssen Bausteine übrig bleiben, welche keine Verwendung finden. In unserem Fall müßten bei der Gliadinfütterung größere Mengen von Glutaminsäure übrig bleiben, denn das Gliadin enthält dreimal soviel Glutaminsäure als die Eiweißkörper des Plasmas. Wir können vorläufig die Frage nicht beantworten, was aus diesen zur Synthese offensichtlich nicht direkt verwendbaren Produkten entsteht. Es ist möglich, daß sie sofort verbrannt werden und

¹⁾ Vgl. hierzu: Emil Abderhalden, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 1906, S. 285 ff., S. 680 ff.

im eigentlichen Eiweißstoffwechsel gar keine Rolle spielen. In diesem Falle hätten wir einen erhöhten Ammoniakgehalt im Blute erwartet. Dies war jedoch nicht der Fall. Es ist denkbar, daß die momentan nicht brauchbaren Bausteine in der Darmwand aufgestapelt werden oder zu anderen Synthesen usw. herangezogen werden. Jedenfalls liegen hier noch große Lücken in unserer Kenntnis der Eiweißassimilation vor. Wir wollen noch erwähnen, daß das ganze Problem viel komplizierter aussieht, wenn man der Annahme zuneigt, daß die Körpereiweißstoffe und speziell auch die Plasmaproteine chemisch einheitliche Individuen sind. In diesem Falle ist es nicht leicht, sich vorzustellen, daß die große Zahl von verschiedenen Aminosäuren im Darmlumen frei wird, um dann im Darmlumen in richtiger Reihenfolge aneinandergelagert zu werden. Bei den Kohlehydraten liegen viel einfachere Verhältnisse vor und auch bei den Fetten erscheint die Synthese des Glycerins mit gleichartigen und verschiedenen Fettsäuren als ein relativ einfacher Vorgang im Vergleich zur Proteinsynthese. Zu einfacheren Vorstellungen gelangt man, wenn man die bis jetzt isolierten Proteine ganz allgemein als Gemische weniger hochmolekularer Produkte betrachtet. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die weiteren Ergebnisse der Eiweißchemie auch hier bald Klarheit schaffen werden.

Es wird noch vieler Versuche bedürfen, um das in Angriff genommene Problem einer bestimmten Lösung zu erschließen. Von einer solchen wird man nur dann sprechen dürfen, wenn die Beweisführung zu einer direkten geworden ist.