

Über eigenartige Konkremeate aus einer Milchdrüsencyste eines Pferdes.

Von

Arthur Scheunert und Walther Grimmer.

(Aus dem physiologischen Institut der tierärztlichen Hochschule zu Dresden.

Direktor: Geheimer Rat Prof. Dr. Ellenberger.)

(Der Redaktion zugegangen am 5. Dezember 1911.)

Konkremente aus den Ausführungsgängen der Milchdrüse sind gelegentlich beschrieben und untersucht worden und enthielten stets fast völlig oder überwiegend anorganische Bestandteile. Fürstenberg¹⁾ unterschied drei Arten: Milchsteine (kleine rundliche, weiße Körper von Bohnen- oder Hirsekerngröße), Pseudomilchsteine (äußerlich den Milchsteinen ähnlich, aber mit einem aus Käse bestehenden Kern) und Konkremeate (ein formloses Gemenge organischer und anorganischer Substanzen. Die Zusammensetzung solcher Konkretionen war in zwei Fällen folgende:

	Milchstein %	Konkrement %
CaCO ₃	92,30	55,98
Ca ₃ (PO ₄) ₂	2,78	17,45
Fett	0,93	2,69
Sonstige organische Substanzen	3,14	18,55
Wasser	0,85	5,83
Eisen, Alkalien	Spuren	Spuren

Im Sommer dieses Jahres gelangten wir in den Besitz einer Anzahl von Konkrementen aus einer Milchretentionscyste eines Stuteneuters, die sich wesentlich von den bisher beschriebenen ähnlichen Konkretionen dadurch unterschieden.

¹⁾ Fürstenberg, zit. nach Tereg, Milch in Ellenbergers Handbuch der vergl. Physiologie, Bd. I, S. 436 (1890).

daß sie beinahe ausschließlich aus organischen Bestandteilen zusammengesetzt waren. Wir verdanken diese Konkremente dem Direktor des pathologischen Institutes unserer Hochschule, Herrn Medizinalrat Prof. Dr. Joest, dem wir auch an dieser Stelle für die Überlassung des Materials verbindlichst danken. Die Vorgeschichte des Falles, der von Joest¹⁾ in pathologisch-anatomischer Hinsicht untersucht und veröffentlicht worden ist, ist kurz folgende:

Vor etwa 14 Jahren wurde eine damals säugende Stute von Personen geneckt und dadurch zum Ausschlagen veranlaßt. Hierbei geriet sie mit einem Hinterbein über eine Bretterplanke und zog sich dadurch eine Euterquetschung zu. Im Laufe der Zeit entwickelte sich ganz allmählich in der kaudalen Seite des Euters eine etwa in der Medianlinie liegende Cyste, die schließlich zu Kindskopfgröße anwuchs. Da dieser bei einer Stute an dieser Stelle unpassende Appendix Ärgernis erregte, sah sich der Besitzer des Tieres genötigt, eine Entfernung desselben auf operativem Wege vornehmen zu lassen. Der die Operation ausführende Tierarzt Dr. Rahne sandte das Euter des nunmehr 21—22 Jahre alten Tieres an das hiesige pathologische Institut zur Untersuchung ein.

Bei der Eröffnung entleerten sich ca. $\frac{3}{4}$ l einer trüben, graugelblichen geruchlosen Flüssigkeit und ferner ca. 500—600 graugelbliche, kugelförmige Konkremente. Die Konkremente waren weich, knetbar, fühlten sich fettig an und besaßen verschiedene Größe, die im Mittel etwa der eines Kirschkernes gleichkam. Eine qualitative Untersuchung derselben ergab, daß ein großer Teil der Konkremente in Chloroform löslich war, der Rückstand Eiweißreaktionen gab und die Asche der Gesamtkonkremente Phosphorsäure und Calcium enthielt. Ferner gaben die Konkremente die Akroleinreaktion und die Sal-kowskische Cholesterinprobe. Wir glaubten daher zunächst, daß die Konkremente hauptsächlich aus den Bestandteilen der Milch beständen.

¹⁾ Joest, Große alte Milchretentionscyste mit Fettkonkrementen im Euter eines Pferdes. Bericht über die Kgl. Sächs. Tierärztliche Hochschule aus dem Jahre 1910, S. 169.

Die Eigenartigkeit des Falles und die qualitativen Befunde veranlaßten uns, eine genauere Untersuchung vorzunehmen, die vor allem den Zweck haben sollte, uns Aufklärung über die Zusammensetzung des ätherlöslichen Bestandteiles und damit über die Herkunft des offenbar darin enthaltenen Fettes zu bringen. Eine Untersuchung der Cystenflüssigkeit konnte, da diese bei der Entleerung verloren gegangen war, nicht ausgeführt werden.

I. Feststellung des Gewichtes. Die in Glycerinwasser aufbewahrten Konkreme wurden mehrfach mit Wasser abgespült und auf Filtrierpapier gelegt, bis dieses keine Feuchtigkeit mehr annahm. Dann wurden einige große, einige mittlere und einige kleine Konkreme gewogen.

Große Konkreme g	Mittlere Konkreme g	Kleine Konkreme g
0,7240	0,4330	0,1675
0,7025	0,4085	0,1520
—	0,3435	0,1380

26 Stück verschiedener Größe wogen 8,3700 g, das Durchschnittsgewicht eines einzelnen Konkremes war demnach 0,322 g.

II. Bestimmung der Trockensubstanz. 8,3700 g der Konkreme wurden zunächst auf dem Wasserbade, dann im Trockenschranke bei 103—105° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Es wurden 2,5725 g = 30,74% Trockensubstanz gefunden.

III. Bestimmung der chloroformlöslichen Substanz. Die erhaltene Trockensubstanz wurde quantitativ in eine Soxhletsche Extraktionshülse übergeführt und mit Chloroform bis zur Erschöpfung extrahiert. Das Chloroform wurde dann abdestilliert und der Destillationsrückstand bei 103—105° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Gefunden wurden 2,0275 g = 24,22% der ursprünglichen Substanz und 78,81% der Trockensubstanz.

IV. Bestimmung des Aschengehaltes. 0,4720 g des Extraktionsrückstandes entsprechend 0,4035 g trockener Substanz wurden im Platintiegel verascht. Der Rückstand wog

0,1070 g = 1,73% der ursprünglichen Substanz und 5,62% der Trockensubstanz.

V. Bestimmung des Eiweißgehaltes. 0,1395 g des Extraktionsrückstandes = 0,1197 g trockene Substanz ergaben nach Kjeldahl 9,6 ccm n_{10} -NH₄OH; 0,1660 g = 0,1406 g trockene Substanz ergaben 11,2 ccm n_{10} -NH₄OH. Daraus berechnet sich ein mittlerer Eiweißgehalt von 4,57% in der ursprünglichen, von 14,86% in der Trockensubstanz.

VI. Untersuchung der Asche. Die im Platintiegel hergestellte Asche des Extraktionsrückstandes wurde qualitativ eingehend untersucht, sie enthielt an Säuren hauptsächlich Kohlensäure, in geringen Mengen auch Chlor und Schwefelsäure, keine Phosphorsäure, an Basen Kalk und Magnesia. Wie eingangs erwähnt, hatte die qualitative Untersuchung in der Asche der Gesamtkonkremente eindeutig die Anwesenheit von Phosphorsäure ergeben, und eine nochmalige Nachprüfung bestätigte dies. Da in der Asche des Extraktionsrückstandes keine Phosphorsäure gefunden werden konnte, mußte auf die Anwesenheit eines Phosphatides geschlossen werden, welches, in Äther löslich, als «Gesamtfett» extrahiert worden war. Es liegt nahe, an Lecithin zu denken.

VII. Bestimmung des Lecithins. Zu dieser Bestimmung ermittelten wir den Phosphorgehalt einer anderen, nur kleinen Menge von Konkrementen, die uns noch zur Verfügung stand. Die Verbrennung erfolgte nach Neumann, die Bestimmung selbst durch Fällung mit Ammoniummolybdat und Titration der zur Lösung des Niederschlags verbrauchten $n_{1/2}$ -NaOH. Zur Lösung des aus 0,6110 g Konkremente erhaltenen Phosphormolybdänniederschlags wurden 0,85 ccm $n_{1/2}$ -NaOH verbraucht, woraus sich ein Prozentgehalt von 0,74% Lecithin berechnet.¹⁾

VIII. Untersuchung des Chloroformextraktes.

1. Die Verseifungszahl. 1,0685 g des Extraktes wurden mit 25 ccm alkoholischer $n_{1/2}$ -Kalilauge verseift und mit $n_{1/2}$ -Schwefelsäure zurücktitriert. Zur Verseifung wurden verbraucht

¹⁾ Abderhaldens Biochem. Arbeitsmethoden, Bd. II, S. 809.

4,35 ccm $n/2$ -KOH. Dieser Wert entspricht einer Verseifungszahl von 114,0 (mg KOH für 1 g Fett).

2. Die Reichert-Meißlsche Zahl. 5 g des Extraktes wurden in einem Erlenmeyer-Kolben mit 20 ccm Glycerin und 2 ccm einer wässerigen 50%igen Kalilauge versetzt und über offener Flamme verseift. Nach dem Erkalten wurde das Verseifungsprodukt mit 90 ccm heißem Wasser und 50 ccm Schwefelsäure, die 25 ccm konzentrierte H_2SO_4 im Liter enthielt, versetzt und 110 ccm davon abdestilliert. Durch ein trockenes Filter wurden 100 ccm des Destillates abfiltriert und mit $n/10$ -NaOH gegen Phenolphthalein titriert. Verbraucht wurden zur Neutralisation 2,6 ccm $n/10$ -Lauge. Die Reichert-Meißlsche Zahl ist demnach 2,86.

3. Die Jodzahl. 0,5375 g des Extraktes wurden in 15 ccm Chloroform gelöst und mit 50 ccm eines Gemisches versetzt, das aus einer Lösung von 30 g Sublimat in 500 ccm Alkohol und 25 g Jod in 500 ccm Alkohol hergestellt worden war. Gleichzeitig wurden 15 ccm Chloroform mit 50 ccm dieses Gemisches versetzt. Nach 5 Stunden wurde nach Zusatz von Jodkaliumlösung und Wasser mit Natriumthiosulfat (9,9 ccm derselben entsprachen 0,17264 g Jod) der Überschuß von Jod zurücktitriert. Die Differenz zwischen beiden Bestimmungen betrug 15,30 ccm $Na_2S_2O_3$ -Lösung. 100 g des Extraktes vermögen demnach 49,64 g Jod zu binden.

4. Bestimmung des Unverseifbaren. Nach der außerordentlich niedrigen Verseifungszahl zu schließen, mußte die Menge der unverseifbaren Bestandteile eine sehr hohe sein. Zu ihrer Bestimmung wurden 5,2580 g des Extraktes mit 50 ccm einer 5%igen alkoholischen Kalilauge unter Rückfluß verseift und nach dem Verdünnen mit dem 5fachen Volumen Wasser mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Der Äther wurde abdestilliert, der Rückstand nochmals mit 10 ccm Lauge verseift und wieder mit Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten ätherischen Lösungen wurden mit wenig Wasser geschüttelt, der Äther abdestilliert, der Rückstand getrocknet und gewogen. Gefunden wurden 2,1100 = 40,13% Unverseifbares.

5. Nachweis des Cholesterins. Der unverseifbare

Rückstand wurde zur Darstellung des darin vermuteten Cholesterins mehrfach aus wässerigem Alkohol und dann aus heißem Alkohol umkrystallisiert. Nach Abtrennung öligcr, nicht unbeträchtlicher Schmiercn gelang es, ein in glänzenden Blättchen krystallisierendes Produkt zu erhalten. Dieses zeigte unter dem Mikroskop die charakteristischen Tafeln und nach Zusatz von Schwefelsäure und Jodjodkalium die altbekannte, in Rot- und Blaufärbung bestehende Cholesterinreaktion. Ebenso fiel die Salkowskische Cholesterinreaktion, sowie die Liebermannsche Cholestolprobe positiv aus.

Nach mehrmaligem Umkrystallisieren mit heißem Alkohol und nach 24 stündigem Aufenthalt im Vakuumexsikkator schmolz das Produkt bei 144—145° (Glikin für Cholesterin 144,5 bis 147°). Da es durch nochmaliges Umkrystallisieren nicht gelang, den Schmelzpunkt zu erhöhen, stellten wir sowohl aus dem reinen Produkt als auch aus den vereinigten Mutterlaugen nach Windaus¹⁾ das Digitonincholesterid, welches in reichlichen Mengen erhalten wurde, her, um hierdurch einen weiteren Beweis für die Identität des Produktes mit Cholesterin zu erbringen.

Die große Menge des Unverseifbaren machte eine Umrechnung der gefundenen analytischen Daten auf reines Fett nötig. Für die Reichert-Meißlsche Zahl und die Verseifungszahl ist dies ohne weiteres möglich, nicht aber für die Jodzahl. Das Unverseifbare der tierischen Fette besteht zumeist aus Cholesterin, das infolge seiner doppelten Bindung ebenfalls Halogen zu addieren vermag. Im folgenden ist angenommen, daß die ganze unverseifbare Substanz aus Cholesterin besteht, und daß dieses zwei Atome Jod bindet. Es ergeben sich dann für das cholesterinfreie Fett folgende Werte:²⁾

Verseifungszahl	190,4
Reichert-Meißlsche Zahl	4,77
Jodzahl	38,88.

¹⁾ Vgl. C. Neuberg, Der Harn usw., Berlin 1911, S. 522.

²⁾ Formel für Cholesterin $C_{27}H_{46}O$, Molekulargewicht 386,46. Äquivalentgewicht des gebundenen Jods 253,84, auf die in 100 g Extrakt enthaltene Menge Cholesterin (40,13 g) entfallen 26,36 g Jod.

Infolge der ungenügenden Kenntnis der chemischen Konstanten des Pferdemilchfettes können aus der Verseifungszahl und der Jodzahl, die vom Pferdemilchfett nicht bekannt sind, direkte Schlüsse nur über die Beziehungen des Konkrementfettes zum Körperfett des Pferdes¹⁾ gezogen werden. Die von uns ermittelte Verseifungszahl von 190,4 stimmt zwar mit der zwischen 183 und 200 liegenden des Pferdekörperfettes überein. Dahingegen ist die Jodzahl des Konkrementfettes 38,85 wesentlich niedriger als die des Pferdekörperfettes, die zu 54—94 gefunden worden ist. Daraus ist zu folgern, daß das Konkrementfett einen wesentlich geringeren Gehalt an ungesättigten Säuren als das Körperfett besitzt, also nicht mit diesem identisch ist. Übrigens dürfte die von uns gefundene Verseifungszahl niedriger als die des Pferdemilchfettes sein, da diesem infolge seines Gehaltes an flüchtigen Fettsäuren wohl eine über 200 liegende Verseifungszahl zugesprochen werden dürfte.

Weitere Schlüsse kann man aus der Reichert-Meißlschen Zahl ziehen. Die tierischen Fette sind im allgemeinen äußerst arm an flüchtigen Fettsäuren, ein höherer Gehalt an diesen kommt nur dem Milchfette zu. Das Milchfett der Einhufer ist erheblich ärmer daran als das der Wiederkäuer, immerhin ist nach Pizzi²⁾ im Pferdemilchfett die Reichert-Meißlsche Zahl 11,22. Der im vorliegenden Falle gefundene Wert von 4,77 liegt zwischen diesem und dem Werte für Körperfett (nach König 0,2—2,1). Es würde demnach hier ein Fett vorliegen, welches nach seinem Gehalt an flüchtigen Fettsäuren dem Kolostralfett der Stute entsprechen dürfte, und in dem wir jedenfalls ein spezifisches Produkt der Milchdrüse, keinesfalls aber Körperfett erblicken müssen. Dieser Auffassung widerspricht auch nicht der Wert der Verseifungszahl, der bei Kolostralfett stets niedriger als bei Milchfett ist und vielfach sich nicht oder nur unwesentlich über den des Körperfettes erhebt.

¹⁾ König, Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe. Berlin 1911, S. 665.

²⁾ Pizzi, zit. n. Grimmer, Chemie und Physiologie der Milch, Berlin 1910, S. 164.

IX. Zusammensetzung der Konkremente. Nach den vorstehenden Resultaten dürften die Konkremente als pathologische Bildungen anzusehen sein; demnach dürfte die ursprünglich von uns auf Grund der Ergebnisse der qualitativen Untersuchung gemachten Annahme, daß sie wesentlich Bestandteile der Milch enthielten, nicht den Tatsachen entsprechen. Sie unterscheiden sich auch völlig von den durch reichlichen Gehalt an anorganischen Bestandteilen ausgezeichneten, seit langem bekannten Milchdrüsenkonkretionen. Wesentlich für die Beurteilung der Konkremente ist das Fehlen von Casein (der Extraktionsrückstand enthielt keinen Phosphor¹), der sehr geringe Aschengehalt, der sehr reichliche Gehalt an unverseifbaren Bestandteilen (Cholesterin) und die Gegenwart eines Fettes, das offenbar weder mit dem Pferdemichfett noch mit dem Körperfett des Pferdes identisch war, sondern, nach seinem Gehalte an flüchtigen Fettsäuren zu urteilen, etwa dem Kolostralfett des Pferdes entsprechend zwischen beiden stand.

Die quantitative Zusammensetzung der Konkremente war nach unseren Analysen folgende:

	Frisches Konkrement %	Trockensubstanz %
Wasser	69,26	—
In Chloroform lösliche Substanz	24,22	78,81
Davon Fett	13,76	44,77
Cholesterin . . .	9,72	31,63
Lecithin	0,74	2,41
Eiweiß	4,57	14,86
Asche	1,73	5,62
	<u>99,78</u>	<u>99,29</u>