

Das Schicksal des intravenös verabreichten Caseins.

Von

B. v. Aáron.

(Mitteilung aus dem physiologischen Institut der Universität Budapest.)

(Der Redaktion zugegangen am 15. August 1916.)

Das Verhalten des Caseins nach intravenöser Verabreichung wurde zuerst von Neumeister¹⁾ neben jenem anderer Eiweißkörper untersucht. Er injizierte einem Hunde intravenös 0,82 ccm (? offenbar g) Casein und fand darauf im Harne viel Eiweiß. Munk und Lewandowsky²⁾ mißbilligten Neumeisters ungenaue Bestimmungen und stellten sich die Aufgabe, das Verhalten verschiedener intravenös verabreichter Eiweißarten, auch des Caseins zu untersuchen. Sie gebrauchten zu ihren Versuchen Kaninchen und fanden, daß, trotzdem sie pro Kilogramm Körpergewicht 6—30 mal mehr Casein³⁾ injizierten als Neumeister, in dem Harne der ersten 3mal 24 Stunden doch nur 4—4,7% der eingeführten Menge aufzufinden war. Neuerlich führten Henriques und Andersen⁴⁾ an verschiedenen Tieren Versuche aus über intravenöse Injektion von Casein; laut ihren Versuchen erscheint ein Teil des Caseins im Harne, worüber sie aber nur qualitative Proben ausführten. Die Beobachtungen von Michaelis und Rona,⁵⁾ die sich auf subcutane Caseininjektion beziehen, fallen außerhalb des Rahmens dieser Untersuchung; sie fanden unter diesen Bedingungen beim Hunde keine Caseinausscheidung durch den Harn.

¹⁾ R. Neumeister, Sitzber. der physik.-med. Gesellsch. in Würzburg 1889. S. 64.

²⁾ I. Munk und M. Lewandowsky, Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1899, Suppl. 73; siehe auch C. Oppenheimers gelegentliche Bemerkung: Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiol., Bd. 4, S. 269 (1904).

³⁾ 0,6, 2,3, 2,4 g Casein pro Kilogramm Körpergewicht.

⁴⁾ V. Henriques und A. C. Andersen, Diese Zeitschr., Bd. 92. S. 194 (1914).

⁵⁾ L. Michaelis und P. Rona, Arch. f. d. ges. Physiol.; Bd. 121. S. 163 (1908); Bd. 124, S. 415 (1908).

In den hier mitgeteilten Versuchen wollte ich diese unentschiedene Frage untersuchen, indem ich die nach intravenöser Caseininjektion im Harn auftretende Eiweißmenge quantitativ bestimmte und so weit als möglich auch ihre Qualität feststellte.

Zu meinen Versuchen gebrauchte ich Grüblersches Casein, welches ich in wenig 2%iger Na_2CO_3 -Lösung zerrieb, dann so viel 0,86%ige NaCl -Lösung zusetzte, daß das Casein zu 1,4 bis 2,6% in einer Mischung von 10 ccm 2%iger Na_2CO_3 und 90 ccm 0,86%iger NaCl -Lösung aufgelöst war; die so erhaltene Lösung war isotonisch. Aus der erhaltenen Emulsion gewann ich durch Aufkochen eine durchscheinende, opalisierende Lösung, die ich filtrierte und sterilisierte. Die Einflößung geschah in die V. jugul. ext. Als Versuchstiere dienten weibliche Hunde, deren Katheterisierung durch das Falcksche Verfahren¹⁾ erleichtert wurde; der 24stündige Harn wurde durch häufige Katheterisierung gesammelt. Während des Versuches und eine Woche vorher wurde der Hund mit Milch und Brot ernährt.

Was die chemische Methodik anbelangt, gebrauchte ich zum qualitativen Nachweise des im Harn erscheinenden Eiweißes die Koch-, Sulfosalicylsäure-, Ferrocyankalium- und die Hellersche Probe. Zur quantitativen Ausfällung fand ich die Sättigung mit ZnSO_4 nach Zunz²⁾ am geeignetsten. Sofern es die Harnmenge erlaubte, führte ich Doppelbestimmungen aus, deren Mittelwerte in den Tabellen mitgeteilt sind. Da das viele ZnSO_4 die Veraschung des Eiweißniederschlags nach Neumann erschwerte, mußte ich das Verfahren modifizieren, indem ich den auf das Filter gebrachten Niederschlag nicht mit kaltgesättigter ZnSO_4 -Lösung, sondern mit destilliertem Wasser auswusch. Die in der 1. Tabelle mitgeteilten Bestimmungen beweisen, daß das destillierte Wasser das durch ZnSO_4 ausgefüllte Casein nicht auflöst. Gleiche Mengen einer Caseinlösung bekannten N- und P-Gehaltes wurden nach Zunz gefällt und mit kalt gesättigter ZnSO_4 -Lösung, verdünnter ZnSO_4 -Lösung, bezw. destilliertem Wasser gewaschen: die gefundenen N- und P-Mengen waren

¹⁾ Falck, Virchows Archiv, Bd. 9, S. 56 (1856).

²⁾ W. Vaubel, Quantitative Bestimmung organischer Verbindungen, Bd. 1, S. 223, Berlin (1902).

immer dieselben. Bei der Aufarbeitung meiner Versuche wurde der $ZnSO_4$ -Niederschlag des Harnes auf dem Filter gesammelt, dreimal mit destilliertem Wasser gewaschen, sein N-Gehalt nach Kjeldahl, sein P-Gehalt nach Neumann¹⁾ bestimmt.

1. Tabelle.

Nr.	mg N in 5 ccm Caseinlösung				mg P in 20 ccm Caseinlösung			
	In der urspr. Lösung	mit $ZnSO_4$ gefällt			In der urspr. Lösung	mit $ZnSO_4$ gefällt		
		m. kalt- gesätt. $ZnSO_4$ - Lösung ge- wasch.	m. ver- dünn. $ZnSO_4$ - Lösung ge- wasch.	mit dest. Wasser ge- wasch.		m. kalt- gesätt. $ZnSO_4$ - Lösung ge- wasch.	m. ver- dünn. $ZnSO_4$ - Lösung ge- wasch.	mit dest. Wasser ge- wasch.
I.	15,86	15,86	15,82	15,84	10,98	10,94	10,99	10,98
II.	15,86	15,84	15,80	15,80	10,99	10,95	10,96	10,95
III.	15,87	15,87	15,80	15,80	—	—	—	—

Bei der Bestimmung der ausgeschiedenen Eiweißmenge berücksichtigte ich, daß der Harn des normalen Hundes mit $ZnSO_4$ fällbare N-haltige Körper enthält, und zwar 100 ccm Harn durchschnittlich 3,5 mg N²⁾ (s. 2. Tabelle). Die in den folgenden Tabellen mitgeteilten N-Werte sind nach Abzug dieses Wertes mitgeteilt. Nach Siegfried,³⁾ Salkowski⁴⁾ und Thar⁵⁾ werden Harnsäure, Purinbasen und Kreatinin durch Zinksalze gefällt; wie weit die bei dem verfolgten Verfahren erhaltenen N-Werte auf diese Stoffe zu beziehen wären, wurde nicht untersucht.

¹⁾ Nach Hoppe-Seyler-Thierfelder, Chem. Anal., 8. Auflage, S. 556, mit der Modifikation von Plimmer-Bayliss und der unter b1 angeführten Modifikation von Gregersen. Nach W. Heubner, Bioch. Zeitschr., Bd. 64, S. 393 (1914) und S. L. Jodidi, Journ. of the amer. chem. soc., Bd. 37, S. 1708 (1915) (zitiert nach Chem. Zentralbl., 1915 IV., S. 807) ist 0,57 der richtige Faktor statt des hier gebrauchten 0,554.

²⁾ Ähnliche Werte erhielt K. v. Körösy, Diese Zeitschr., Bd. 69, S. 313 (1910).

³⁾ M. Siegfried, Diese Zeitschr., Bd. 24, S. 399 (1898).

⁴⁾ K. Kojo, Diese Zeitschr., Bd. 73, S. 416 (1911); M. Kashiwabara, ebenda, Bd. 84, S. 223 (1913); E. Salkowski, ebenda, Bd. 85, S. 346 (1913), derselbe: Charité-Annalen, Bd. 37, S. 239 (1913); derselbe: Bioch. Zeitschr., Bd. 55, S. 254 (1913).

⁵⁾ H. Thar und J. Beneslawski, Biochem. Zeitschr., Bd. 52, S. 435 (1913); H. Thar, ebenda, Bd. 56, S. 353 (1913).

2. Tabelle.

Nr.	Durch ZnSO ₄ fällbarer N in 100 ccm normalem Hundeharn mg
I.	4,08
II.	3,09
III.	2,39
IV.	4,34
V.	3,50
VI.	3,64
Mittel	3,50

Die Resultate meiner Versuche teile ich in den Tabellen 3 bis 7 mit. Versuch I und II konnte nicht aufgearbeitet werden, weil die Hunde an dem der Injektion folgenden dritten Tage starben. Ähnliche Fälle wurden auch von v. Körösy¹⁾ und Henriques und Andersen²⁾ beobachtet. Die Ursache war wahrscheinlich die, daß zuviel Casein injiziert wurde (pro Kilogramm Körpergewicht 50—60 mg N). Die Aufarbeitung des Versuches Nr. V mißlang, weil der Hund während der Versuchszeit eine starke Albuminurie bekam: es erschien hitze-koagulierbares Eiweiß im Harne; die Albuminurie bestand hartnäckig noch zu Ende der zweiten Woche nach der Injektion.

3. Tabelle.

III. Versuch. Gewicht des Hundes 9,5 kg. N-Gehalt der injizierten 80 ccm Caseinlösung 354 mg.

Versuchs- tag	24 stündige Harmenge ccm	Eiweiß-N im Harn	
		in 100 ccm Harn mg	im 24 stündigem Harn mg
1.	490	17,67	86,6
2.	450	11,86	53,4
3.	560	9,10	51,0
4.	400	4,10	16,4
5.	450	4,04	18,2
Summe:			225,6

¹⁾ K. v. Körösy, a. a. O.

²⁾ V. Henriques und A. C. Andersen. Diese Zeitschr., Bd. 92. S. 194 (1914).

4. Tabelle.

IV. Versuch. Gewicht des Hundes 11,0 kg. N-Gehalt der injizierten
100 ccm Caseinlösung 284 mg.

Versuchs- tag	24-stündige Harnmenge ccm	Eiweiß-N im Harn	
		in 100 ccm Harn mg	im 24-stünd. Harn mg
1.	395	16,21	64,0
2.	415	11,83	49,1
3.	380	8,93	33,9
4.	125	16,03	20,0
5.	250	0,19	0,5
Summe:			167,5

5. Tabelle.

VI. Versuch. Gewicht des Hundes 13,5 kg. N-Gehalt der injizierten
100 ccm Caseinlösung 305 mg.

Versuchs- tag	24-stündige Harnmenge ccm	Eiweiß-N im Harn	
		in 100 ccm Harn mg	im 24-stünd. Harn mg
1.	890	6,86	61,0
2.	240	18,06	43,3
3.	150	19,32	29,0
4.	480	2,74	13,1
5.	400	4,90	19,6
Summe:			166,6

6. Tabelle.

VII. Versuch. - Gewicht des Hundes 10,0 kg. N-Gehalt der injizierten
100 ccm Caseinlösung 302 mg.

Versuchs- tag	24-stündige Harnmenge ccm	Eiweiß-N im Harn	
		in 100 ccm Harn mg	im 24-stünd. Harn mg
1.	760	9,57	72,7
2.	340	15,69	53,3
3.	330	10,40	34,3
4.	500	3,81	19,0
5.	630	0,87	5,6
Summe:			184,9

7. Tabelle.

VIII. Versuch. Gewicht des Hundes 11,0 kg. N-Gehalt der injizierten 100 ccm Caseinlösung 219 mg. Temperaturgang s. 10. Tabelle.

Versuchs- tag	24stündige Harmmenge ccm	Eiweiß-N im Harn	
		in 100 ccm Harn mg	im 24stünd. Harn mg
1.	250	14,98	37,4
2.	350	7,40	25,9
3.	630	2,97	18,7
4.	270	10,50	28,3
5.	420	0,77	3,2
Summe:			113,5

Aus den Ergebnissen der in den Tabellen mitgeteilten fünf Versuche ist zu ersehen (s. 8. Tabelle), daß durchschnittlich 58% des intravenös gegebenen Casein-N im Verlaufe der ersten fünfmal 24 Stunden in durch $ZnSO_4$ aussalzbarer Gestalt durch den Harn entleert werden. Der Harn der sechsten 24 Stunden zeigte mit den oben erwähnten Proben untersucht keine in Betracht kommende Trübung. Nach der Aussage der 8. Tabelle wird ein desto größerer Anteil der injizierten Caseinmenge ausgeschieden, je mehr Casein pro Kilogramm Körpergewicht injiziert war.

8. Tabelle.

Zusammenfassung der in Tabelle 3—7 mitgeteilten Versuchsergebnisse.

Nr. des Versuches	Körper- gewicht kg	Injizierter Casein-N mg	Dasselbe pro 1 kg Körper- gewicht mg	Gesamt- menge des ausgeschied. Eiweiß-N mg	Dasselbe in Proz. der injizierten N-Menge %
III.	9,5	354	37	225,6	63,7
VII.	10,0	302	30	184,9	61,2
IV.	11,0	283	26	167,5	59,2
VI.	13,5	304	23	166,0	54,6
VIII.	11,0	218	20	113,5	52,0
Mittel:					58,1

Es mußte aber auch die Qualität des ausgeschiedenen Eiweißes untersucht werden, wobei in erster Linie zu betonen ist, daß das ausgeschiedene Eiweiß ebenso wie das Casein durch Hitze nicht koagulierbar war. Dem ausgeschiedenen Casein war also kein Serumeiweiß beigemischt, während dies bei subcutaner Injektion von Eiereiweiß in Kaninchen nach den Beobachtungen von de Waele und Vandeveldel¹⁾ — dem Befunde von Oppenheimer²⁾ gegenüber — offenbar der Fall ist, da dieselben im Harne im Verlaufe mehrerer der Injektion folgenden Tage mehr koagulierbares Eiweiß fanden, als injiziert wurde.

Zur weiteren Klärung der Frage verfuhr ich mit den im IX. Versuch gewonnenen Harnen folgendermaßen (s. 9. Tabelle): der mit $ZnSO_4$ erhaltene Niederschlag wurde mit destilliertem Wasser gewaschen, in destilliertem Wasser suspendiert und durch Zersetzung desselben durch eingeleitetes H_2S der gefällte Eiweißkörper wieder in Lösung gebracht. Das so erhaltene Eiweiß zeigte die Eigenschaft des Caseins, daß es auf starke Verdünnung mit destilliertem Wasser und Ansäuerung mit $\frac{1}{2}\%$ iger Essigsäure ausfiel, aber durch Hitze ebensowenig koagulierbar war, als das ursprünglich im Harne enthaltene Eiweiß. Die Menge des in Lösung gebrachten und durch Essigsäure ausgefällten Eiweiß-N habe ich auch quantitativ bestimmt: in den 5 Tagen wurden 50,5% der eingeführten Menge ausgeschieden. Dieser relativ niedrige Wert entspricht ungefähr den in der 8. Tabelle zusammengestellten Werten, indem diesmal pro Kilogramm Körpergewicht nur 16,2 mg Casein-N injiziert wurde. Es ist aber auch zu bemerken, daß laut den Ergebnissen von fünf diesbezüglich ausgeführten Versuchen aus einer durch $ZnSO_4$ gefällten Caseinlösung nur 84,2—86,8% des Caseins auf die angegebene Weise in Lösung zu bringen und wieder auszufüllen ist. Auf Grund dieser Beobachtungen können die durch Aussalzung mit $ZnSO_4$ gewonnenen N-Mengen nach Ab-

¹⁾ H. de Waele und A. J. J. Vandeveldel, Bioch. Zeitschr., Bd. 30, S. 227 (1911).

²⁾ C. Oppenheimer, Hofm. Beitr. z. chem. Physiol., Bd. 4, S. 263 (1904).

zug der erwähnten Korrektur getrost als dem ausgeschiedenen Casein angehörend betrachtet werden.

9. Tabelle.

IX. Versuch. Gewicht des Hundes 13,5 kg. N-Gehalt der injizierten 100 ccm Caseinlösung 219 mg.

Versuchs- tag	24 stündige Harn- menge ccm	Mit Essigsäure gefällter N des zer- setzten $ZnSO_4$ -Niederschlags	
		in 100 ccm Harn mg	im 24 stünd. Harn mg
1.	300	15,40	46,2
2.	340	9,18	31,2
3.	500	3,51	17,5
4.	450	1,85	8,3
5.	400	1,69	6,8
Summe:			110,0

Ursprünglich wollte ich in Anbetracht des hohen Phosphorgehaltes des Caseins durch Bestimmung des P-Gehaltes des $ZnSO_4$ -Niederschlags entscheiden, ob das entleerte Eiweiß Casein ist oder nicht. Der P-Gehalt dem Harne zugesetzten Caseins wird im $ZnSO_4$ -Niederschlage, laut dem Ergebnisse diesbezüglich ausgeführter Versuche, unverändert zurückerhalten. Die Versuche IV, VI und VII zeigten aber, trotzdem der Harn angesäuert war, einen so hohen P-Gehalt des $ZnSO_4$ -Niederschlags, daß aus dem P-Gehalte keine Folgerungen über die Natur des ausgeschiedenen Eiweißes gezogen werden konnten. Die gefundenen P-Werte waren für die gesamten Harnmengen: Versuch IV 1. Tag 131, 2. Tag 95; Versuch VI 1. Tag 121; Versuch VII 1. Tag 156 mg. Es wurde also mehr P ausgeschieden, als injiziert war, und ziemlich genau zweimal so viel P ausgeschieden als N. Weitere Untersuchungen werden es zu entscheiden haben, ob es sich um ein verändertes Casein oder um Mitfällung eines P-reichen Körpers handelt.

Schließlich müssen noch einige nach der Caseininjektion beobachtete Erscheinungen erwähnt werden. Die Temperatur stieg in den ersten 24 Stunden um 1—2°, um dann auf das

Normale zurückzusinken; ihr näheres Verhalten für Versuch VIII zeigt die 10. Tabelle. Als analoger Befund ist zu erwähnen, daß Heilner,¹⁾ Schittenhelm, Weichardt und Hartmann²⁾ nach intravenöser Injektion verschiedener Eiweißstoffe Temperaturerhöhung beobachteten. Ferner habe ich am ersten Tage öfter, einmal aber auch am dritten Tage Diarrhöe und Erbrechen beobachtet. Größeren Umfang nahmen sie nur, wenn eine größere Menge Casein injiziert wurde. Um den aus der Diarrhöe und dem Erbrechen stammenden Unannehmlichkeiten auszuweichen, verabreichte ich mit Erfolg in den fünf letzten Versuchen (V—IX) 1 g Bism. subnitr. am vorangehenden Tage. In diesen Fällen blieben die erwähnten unangenehmen Erscheinungen sozusagen vollkommen aus.

10. Tabelle.

Temperaturmessungen im Mastdarm während des VIII. Versuches. C°.

Versuchs- tag	Stunde												
	Vormittags					Nachmittags							
	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8
913. XI. 24.	39,4		39,3		38,6	38,6	38,7	38,5	38,7	38,7	38,6		38,6
913. XI. 25.	39,9		39,6 ^{*)}	39,7	40,9	41,1	41,4	41,6	41,6	41,7	41,8	41,8	41,8
913. XI. 26.	39,1		38,9		38,6		38,5		38,3		38,6		38,6

Meine Versuchsergebnisse zeigen also, daß Neumeisters Beobachtungen im wesentlichen richtig waren. Die entgegengesetzten Befunde von Munk und Lewandowsky finden vielleicht darin ihre Erklärung, daß sie die Menge des ausgeschiedenen Eiweißes durch Hitzekoagulation im angesäuerten und schwach salzhaltigen Medium bestimmten. Es ist aber auch möglich, daß die von ihnen benützten Kaninchen sich diesbezüglich anders verhalten, als die Hunde; jedenfalls sind sie der vergiftenden Wirkung des Caseins gegenüber wider-

¹⁾ E. Heilner, Zeitschr. f. Biolog., Bd. 50, S. 26 (1908).

²⁾ A. Schittenhelm, W. Weichardt und F. Hartmann, Zeitschrift f. exp. Path., Bd. 10, S. 488 (1912); Bd. 11, S. 69 (1912).

^{*)} Injektion der Caseinlösung.

standsfähiger, denn Munk und Lewandowsky konnten ihnen 2—4 g pro Kilogramm Körpergewicht injizieren.

Die Tatsache, daß 58% des intravenös injizierten Caseins unausgenützt durch den Harn ausgeschieden werden, ist darum von Wichtigkeit, weil das Casein für den tierischen Organismus kein körperfremdes Eiweiß ist; sein Verhalten steht diesbezüglich im Gegensatz zu jenem des Serumeiweißes,¹⁾ von welchem gar nichts, und des Muskeleiweißes, von welchem nach den Untersuchungen Quagliariellos²⁾ 0—10% durch den Harn in unveränderter Gestalt ausgeschieden werden. Es ist ferner zu erwähnen, daß nach Gürber und Hallauer³⁾ ein weiterer — nach ihrer Schätzung wesentlicher — Bruchteil des Caseins durch die Galle ausgeschieden wird.

Das Resultat meiner Untersuchungen kann ich dahin zusammenfassen, daß beim Hunde nach intravenöser Einführung von Casein durch den Harn bedeutende Eiweißmengen ausgeschieden werden, und zwar durchschnittlich 58% des eingeführten N. Das ausgeschiedene Eiweiß ist durch Hitze nicht koagulierbar, durch ZnSO₄ ausgefällt und wieder in Lösung gebracht zeigt es die Eigenschaft des Caseins, nach starker Verdünnung mit destilliertem Wasser und Ansäuerung mit 1/2%iger Essigsäure auszufallen.

Diese Arbeit wurde in den Jahren 1912—14 im unter Leitung des † Prof. L. v. Udránszky stehenden physiologischen Institute der Universität Budapest ausgeführt.

¹⁾ K. v. Körösy, XVI. internat. mediz. Kongr. Budapest 1909. *Physiol.*, S. 111; S. v. Somogyi, *Diese Zeitschr.*, Bd. 71, S. 125, 1911; A. Henriques und A. C. A. Andersen, *Diese Zeitschr.*, Bd. 92, S. 194 (1914).

²⁾ C. Quagliariello, *Archivio di fisiol.*, Bd. 11, S. 565 (1913).

³⁾ A. Gürber und B. Hallauer, *Zeitschr. f. Biol.*, Bd. 45, S. 372 (1904).