

Studien zur Physiologie der Schilddrüse.

VII. Mitteilung.

Jodumsetzungen im Organismus.

Von

F. Blum und R. Grützner.

(Aus dem biologischen Institut zu Frankfurt a. M.)
(Der Redaktion zugegangen am 8. August 1920.)

Unter Jodumsetzung verstehen wir die Fähigkeit des Organismus, das Jod von einer bestimmten Bindungsart in eine andere überzuführen. Hierher gehört die Bildung von Jodeiweiß in der Schilddrüse und dessen fortschreitende Jodierung bei Zufuhr von Jodalkali, wie sie durch eine besondere Versuchsanordnung von uns exakt nachgewiesen und quantitativ verfolgt worden ist¹. Diese Eigenschaft der Schilddrüse, aus Jodalkali anorganisches Jod freizumachen und es zur Bildung von Jodeiweiß zu verwenden, ist wohl die wichtigste Tatsache des ganzen Jodstoffwechsels und sie ist auch die einzige sicher nachgewiesene Lebenstätigkeit der Schilddrüse. Verschiedene Beobachtungen lehren, daß diese Funktion der Drüse schon im jugendlichen Alter und in der Entwicklungszeit ante partum zukommt²). Der Bildung organischen Jods aus anorganischem in und vermittelt der Schilddrüse und zwar durch sie allein von allen Organen³) steht der Gesamtorganis-

¹) Die Untersuchungen waren in der Hauptsache im Sommer 1914 abgeschlossen; doch wurde ihre Veröffentlichung durch mit dem Krieg zusammenhängende Umstände bis jetzt verhindert.

²) Diese Zeitschr. Bd. 91, S. 421 (1914) und E. Strauß, ebenda Bd. 104, S. 133 (1919).

³) Ebenda S. 416 ff. und noch unveröffentlichte Beobachtungen.

⁴) VI. Mitteilung; diese Zeitschr. Bd. 92, S. 375 ff. (1914).

mus gegenüber nur mit der Fähigkeit, das Thyreoglobulin, wofern es einmal in den Kreislauf gelangt, abzubauen und seines Jods zu entkleiden. Die Stoffwechselwirkung des Thyreoglobulins ist allgemein anerkannt. Dabei tritt ein Abbau dieses Jodeiweißes im Verdauungskanal ein¹⁾, der sich durch die Ausscheidung der Hauptmenge des Thyreoglobulinjods mit dem Urin als anorganisches Jod kundgibt. Die Wirkung vom Magendarmkanal aus ist eine pharmakologische, aber keine physiologische Reaktion. Die Anschauungen der Sekretionstheorie legen den Hauptwert auf die im ganzen Bereich des Blutkreislaufs eingreifende physiologische Wirkung des jodhaltigen Schilddrüsenstoffes, dessen Abgabe in die Blutbahn die eigentliche physiologische Funktion der Thyreoidea sein sollte. Ergeben sich nun irgendwelche Hinweise für eine solche Auffassung der Tätigkeit der Schilddrüse, wenn man das Schicksal des Jodkörpers der Schilddrüse studiert, indem man ihn in den Kreislauf einführt?

Zunächst wurde erneut geprüft, wie sich beim normalen Tier nach Injektion von Schilddrüsenjod jener Jodeiweißkörper verhält, soweit seine Jodkomponente in Betracht kommt. Dabei wurde die Erfahrung bestätigt, daß der Organismus die Fähigkeit besitzt, das parenteral einverleibte Schilddrüsenjodeiweiß zu verändern, indem er es abbaut und das Jod der zugeführten Substanz in Form von anorganischem Jod (Jodalkali) durch die Nieren ausscheidet. Die Jodkomponente wird hier also zum gleichen Endprodukt verarbeitet wie bei enteraler Einführung von Jodeiweiß.

Um zu entscheiden, ob die Schilddrüse etwa bei diesem Abbau eine ausschlaggebende Rolle spielt, wurde an thyreopriven Tieren der gleiche Versuch angestellt, wobei sich zeigte, daß auch dem schilddrüsenlosen Organismus die Fähigkeit der Zerlegung in gleicher Weise zukommt wie dem normalen. Daraus mußte man erschließen, daß mindestens noch ein Organ im Körper die Fähigkeit besitzt, das in den Kreislauf eingebrachte

¹⁾ S. a. von Fürth und Friedmann, Arch. f. exp. Path. etc. S. 214 (1908).

Thyreoglobulin abzubauen. Daß der Schilddrüse selbst diese abbauende Kraft ebenso zukommt wie die nachgewiesene synthetisierende, ist in hohem Maße wahrscheinlich. Wenigstens erlauben mancherlei Befunde eine solche Deutung, wie z. B. das Vorkommen von Jodid und von organisch gebundenem, in Aceton löslichem Jod in den Drüsen und das dauernde Verbleiben von Jod in dem Organ bei gleichzeitiger reger Lebens-tätigkeit. Aber es galt nun, das oder die anderen abbauenden Organe festzustellen.

Unsere Versuche, die mit Organsäften sowie zerhackten Organen und, bei der Leber, auch mittels der Durchblutungsmethode durchgeführt wurden, ergaben, daß die Leber diese abbauende Fähigkeit gegenüber dem Thyreoglobulin besitzt, während sie dem Blut und den anderen untersuchten Organen abzugehen scheint.

Das Geschick des in die Blutbahn eingeführten Jodeiweißkörpers ist also eine Spaltung, die zu anorganisch gebundenem Jod oder mindestens zu niedrigeren jodhaltigen Spaltprodukten des Proteinmoleküls führt. Als Endprodukt der Spaltung tritt Jodalkali auf, das ungesäumt im Harn ausgeschieden wird und nur zum geringsten Teil von der Schilddrüse aus dem Kreislauf aufgegriffen wird, da die Ausscheidung in wesentlich schnellerem Tempo vor sich geht als die Aufnahme durch die Schilddrüse.

Die nachgewiesene Entstehung von acetonlöslichen Jodverbindungen ist nicht etwa nur auf das mit dem Schilddrüsen-saft zugeführte acetonlösliche Jod zurückzuführen, wie ausdrücklich hervorgehoben sei, sondern beruht auf einer Aufspaltung des durch Aceton koagulierbaren Jodproteins selber, wie aus den quantitativen Verhältnissen unserer Versuchsergebnisse hervorgeht.

Wenn, wie die Lehre von der inneren Sekretion annimmt, beständig Jodeiweiß aus der Schilddrüse in den Kreislauf überträte, so müßte auch dieses der Spaltung und Ausscheidung unterliegen, ebenso wie der künstlich einverleibte Schilddrüsen-saft. Die Hilfhypothese, es werde eben das kreisende Jod von der Schilddrüse alsbald und vollständig wieder festgelegt,

setzt eine äußerst energische Jodanziehung seitens der Thyreoidea voraus. Einmal gebundenes Jod wird allerdings in der Drüse sehr fest gehalten, wie unsere Hungertiere und Tiere mit jodfreier Ernährung zeigten¹⁾. Das besagt aber für eine Jodanziehung nichts; denn es kann, wohin ja unsere Annahme geht, der Jodstoffwechsel sich ausschließlich innerhalb des Organs abspielen, so daß das Halogen die einmal gewonnene Herberge nie zu verlassen braucht. Um hingegen eine Verarmung der Schilddrüse an Jod bei beständiger Abgabe von Jodeiweiß, das im Körper sofort gespalten wird, auszuschließen, müßte die Annahme gemacht werden, daß die Schilddrüse äußerst schnell und vollständig die im Blut kreisenden Jodsubstanzen wieder aufzugreifen vermag. Diese Annahme ist aber widerlegt durch die Beobachtung, daß kurz dauernde Zufuhr von Jodalkali oder Jodeiweiß eine merkbare Jodanreicherung der Schilddrüse nicht hervorzurufen vermag, sondern daß eine länger dauernde „Jodmast“ dazu nötig ist. Auch für eine Undurchgängigkeit der Nieren gegenüber kleinsten Jodmengen liegt keinerlei Anhalt in allen bisherigen Forschungsergebnissen vor.

Soll die Anschauung, daß beständig ein jodhaltiges Sekret die Schilddrüse verlasse, mit den genannten Tatsachen in Übereinstimmung gebracht werden, so muß man annehmen, daß normalerweise kein Abbau desselben im Organismus bzw. keine Ausscheidung durch die Nieren stattfindet und das Sekret als solches oder seine Spaltprodukte besonders rasch und vollständig von der Thyreoidea wieder aufgegriffen werden. Die Beobachtungen ergeben im Gegensatz dazu,

1. daß das kreisende Schilddrüsenjodeiweiß im Organismus lebhaft abgebaut wird,
2. daß die Hauptmenge des Jods schnellstens zum größten Teil wohl durch die Nieren in abgebauter Form entfernt wird und
3. daß Jodeiweiß oder Jodalkali aus der Blutbahn nur langsam von der Schilddrüse aufgenommen werden

¹⁾ IV. Mitteilung, Diese Zeitschr. Bd. 91, S. 422 ff.

und bei kurzen Zeiträumen überhaupt nicht zu einer nachweisbaren Jodanreicherung in der Schilddrüse führen.

Will man trotz so vieler Gegen Gründe an den üblichen Anschauungen von der inneren Sekretion des Jodeiweißkörpers der Schilddrüse festhalten, so muß man, um den Beobachtungen gerecht zu werden, die Hypothese aufstellen, daß die nicht mehr meßbaren Mengen des Sekretes in jeder Beziehung umgekehrt sich verhalten als die kleinsten, noch eben meßbaren Mengen derselben Substanz.

Wir glauben demgegenüber auf sichererem wissenschaftlichem Boden zu stehen, wenn wir auf Grund unserer Untersuchungen den intraglandulären Jodstoffwechsel der Schilddrüse als einen diesem Organ eigentümlichen und charakteristischen Lebensvorgang bezeichnen¹⁾. Die Fernwirkungen auf den Gesamtorganismus vollziehen sich durch ein Herausgreifen von bestimmten Stoffen aus dem Kreislauf und nicht etwa durch eine Abgabe von Jodeiweiß in Blut- oder Lymphbahn.

Experimenteller Teil.

1. Normale Tiere.

Zunächst seien Beispiele für den Abbau des Schilddrüsen-eiweißes im normalen Organismus aufgeführt. Je nachdem der Verlauf des Abbaues durch die Ausscheidung im Urin oder durch das Auftreten von inkoagulablem Jod im Blut studiert wird, ist auch die Menge des einverleibten Jodeiweißkörpers zu dosieren; im letzteren Fall sind der leichteren Nachweisbarkeit wegen größere Gaben am Platz. Bei den meisten Versuchen wurde der möglichst steril gewonnene, mittels Filtration durch ein Berkefeld- oder Pröscher-Filter von Keimen

¹⁾ Wenn Herzfeld und Klinger (Biochem. Zeitschr. Bd. 96, S. 260) sich auf Grund unserer Mitteilung zu der Erkenntnis jetzt durchgerungen haben, daß nur durch „aktiven“ Sauerstoff die Jodierung des Schilddrüsen-eiweißes erklärbar ist, dann haben sie hierdurch die Spezifität der Schilddrüsentätigkeit anerkannt; denn in keinem anderen Organ findet sich jener aktive Sauerstoff, der aus Jodalkali Jod freizumachen vermag — die „Jodase“ des einen von uns —, als in der Schilddrüse.

befreite Schilddrüsen-saft dem Versuchstier kardial injiziert. Im Stoffwechselkäfig wurde das Tier beobachtet, dessen Urin vorher untersucht war und das schon einige Zeit vorher und dann weiter eine jodfreie Nahrung erhielt. Nach einigen Stunden wurde, nachdem der Urin gesammelt war, eine genügende Menge Blut durch Aderlaß entnommen und sofort mit Aceton gefällt zur Untersuchung auf organisches und anorganisches Jod nach der Acetonmethode¹⁾. Die Ausscheidung des Jods im Urin wurde in den nächsten Tagen weiterverfolgt. Wo die Untersuchung des Blutes die Hauptsache war, wurde einige Stunden nach der Saftinverleibung entblutet.

Beispiele: Normaler Hund, Urin ohne Besonderheit. Erhält artgleichen Saft von $1\frac{3}{4}$ Hundeschilddrüsen kardial eingespritzt. Nach $3\frac{1}{2}$ Stunden wurden 100 ccm Blut entnommen, mit Ammonoxalat ungerinnbar gemacht und mit Aceton gefällt. Es gab die Analyse der einzelnen Fraktionen:

$$F = 0 \text{ —?}, \quad E = 0, \quad K = \text{Spur.}$$

Der Urin bis zum nächsten Tag enthielt schon 0,66 mg Jod, der vom zweiten Tag 0,1 mg Jod.

Es ergibt sich, daß nach 2 Tagen schon 0,76 mg des einverleibten Jods im Urin, der von Eiweiß frei war, ausgeschieden sind. Die Mittelwerte für Hundeschilddrüsen liegen um 0,7 mg Jod pro Drüse. Das Tier hätte also, wenn es möglich wäre, Verluste beim Auspressen der Schilddrüsen und Filtrieren des Saftes zu vermeiden, ungefähr 1,2 mg Jod erhalten; tatsächlich wohl aber weniger, so daß mit ziemlicher Bestimmtheit gesagt werden kann, daß die Hauptmenge des zugeführten Jods in abgebauter Form im Urin nach 2 Tagen ausgeschieden war. Die Menge von 100 ccm Blut war bei der kleinen Jodgabe zu gering, um einen Vergleich von abgebautem und unverändertem Schilddrüsen-eiweiß zu gestatten, so daß der negative Befund im Filtrat nicht auffällig ist.

¹⁾ Bei den folgenden Versuchen bedeutet F = Filtrat der Acetonfällung, E = Extrakt, gewonnen mit siedender dünner wäßriger Lösung von Natriumsulfat und Essigsäure aus K = Koagulum.

Anders ist dies in folgendem Beispiel:

Ein Hund, dessen Blut sich als vollkommen jodfrei erwiesen hatte, bekam 14 ccm sterilen SchilddrüSENSaft kardial injiziert. Nach der Bestimmung eines aliquoten Teils desselben Saftes etwa 0,2 mg Jod. In 100 ccm nach einigen Minuten entnommenen Blutes ließ sich weder im Filtrat noch im Koagulum Jod nachweisen, wohl aber in 300 ccm Blut, die beim Entbluten des Tieres nach 4 Stunden erhalten waren. Das Filtrat ergab 0,14 mg Jod, $E = 0$. Im Koagulum konnte kein Jod mehr gefunden werden. Der Urin der ersten 4 Stunden enthielt etwa 0,03 mg Jod. Der Versuch zeigt, daß hier nach 4 Stunden bereits die Hauptmenge gespalten war und die Ausscheidung durch die Nieren begonnen hatte. Daß die Spaltung schon die ganze Substanz getroffen hatte, scheint aus dem negativen Befund im Koagulum hervorzugehen. Es ist wahrscheinlich, daß bei diesem Fall die Verwendung arteigenen Saftes mit dem schnellen Abbau zusammenhängt.

Mit artfremdem Saft ist folgender Versuch durchgeführt:

Ein Hund bekommt 30 ccm HammelschilddrüSENSaft kardial injiziert. Gesamtjodmenge des Saftes 2,1 mg. Die sofort entnommenen 50 ccm Blut enthielten im $F = 0$, im $K = 0,04$ mg Jod. Nach 4 Stunden wurde entblutet und die erhaltenen 250 ccm Blut untersucht, $F = 0,18$ mg, $K = 0,50$ mg Jod; der Urin ging verloren. Das Beachtenswerte an dem Versuch ist natürlich nicht die absolute Menge, sondern das Verhältnis von Filtratjod und Koagulumjod. Während zuerst das Blut kein Filtratjod zeigt, steigt der Gehalt daran auch hier bei Verwendung artfremden Saftes auf über ein Drittel des Koagulumjods ($K : F$ wie 100 : 36). Der Befund an den untersuchten Organen war folgender:

Leber	$F = 0,04$,	$K = 0$ — Spur
Nieren	$F = 0$,	$K = 0$.

Die immerhin deutlich nachweisbare Menge im Leberfiltrat ist im Hinblick auf spätere Beobachtungen beachtenswert.

Ein Hammel, dessen Urin jodfrei war, erhielt 60 ccm HammelschilddrüSENSaft mit einem Gehalt von 2,94 mg organischem Jod und 0,06 mg anorganischem Jod intravenös injiziert

(Verhältnis von $K : F = 100 : 2,04$). Die in den ersten 6 Stunden nach der Einspritzung gesammelte Urinmenge enthielt 0,04 mg Jod, die nächste in den darauffolgenden 14 Stunden gesammelte Menge 0,10 mg. In den folgenden 3 Tagen wurden 0,62 mg Jod in dem zur Untersuchung gesammelten Urin gefunden. Die Jodverteilung im Blut, von dem 320 ccm 6 Stunden nach der Einspritzung entnommen wurden, zeigte folgendes Bild: $F = 0,05$ mg Jod; $E = 0$; Spur $K = 0,08$. Verhältnis $K : F$ wie $100 : 62,5$. Es zeigt sich also auch hier ein Abbau, nur ist offenbar, wie auch die folgenden Versuche zeigen, die Ausscheidung beim Hammel nicht ebenso prompt, wie in den obigen Fällen bei Hunden mit arteigenem Schilddrüsenensaft. Ob etwa eine zeitweilige Speicherung von Jodalkali im Organismus dieses Pflanzenfressers stattfindet oder ob nur eine langsamere Ausscheidung vorliegt, ist noch nicht zu entscheiden.

2. Thyreoprive Tiere.

In den folgenden Versuchen wird gezeigt, daß auch Tiere, die keine Schilddrüse mehr besitzen, noch imstande sind, ins Blut eingeführte Schilddrüsensubstanz zu dem gleichen Endprodukte, wie normale Tiere, abzubauen.

Ein schilddrüsenloser Hund erhält 4 Tage lang im Anschluß an die Operation täglich 2 mal je 18 ccm sterilen Hundeschilddrüsenensaft = 1,22 mg Jod im Koagulum und 0 im Filtrat intraperitoneal injiziert. Die tägliche Dosis Schilddrüsenensaft entspricht etwa 3 Schilddrüsen. Trotz dieser starken Zufuhr von Schilddrüsensubstanz bekommt das Tier am 4. Tag Tetanie und wird entblutet. In den erhaltenen 275 ccm Blut wurden gefunden $F = 0,1$ mg, $E = 0$, $K = 0,03$, $K : F$ wie $100 : 333$. Der erste gesammelte Urin enthielt 0,4 mg Jod, die zweite Portion ging verloren, die dritte enthielt mehr als 0,5 mg Jod (geringe Verluste).

Die Leber des Tieres enthielt	$F = 0,04$,	$E = 0$,	$K = 0,09$ mg Jod,
die Milz	$F = 0,04$ ¹⁾ ,	$E = 0$,	$K = 0$,
die Nieren	$F = 0$,	—	$K = 0$.

¹⁾ Etwas Nachoxydation.

Außer dem Ergebnis, daß auch große Mengen intra-peritoneal zugeführter artgleicher Schilddrüsensubstanz die schweren Ausfallserscheinungen nicht hintanhaltend konnten¹⁾, zeigt der Versuch, daß auch bei dem schilddrüsenlosen Tier ein rascher Abbau des einverleibten Schilddrüsen-eiweißes zu mit Aceton nicht fällbarem Filtratjod und eine prompte Ausscheidung als anorganisches Jod im Urin erfolgt.

Ein ähnliches Resultat zeigt der im wesentlichen gleichartige folgende Versuch. Ein thyreopriver Hund erhält 5 Tage lang täglich je 2 mal 8 ccm sterilen Hundeschilddrüsen-saft = 0,22 mg Jod im Koagulum und 0 im Filtrat. Am 5. Tag wurde in Tetanie entblutet. 240 ccm Blut enthielten $F = 0,04$ mg, $E = 0$, $K = 0,16$ mg Jod, $K : F$ wie 100 : 25. Der vorher jodfreie Urin enthielt an den ersten zwei Tagen 0,6 mg Jod, die an den übrigen Tagen gesammelte Menge enthielt 0,37 mg Jod. Der erste war spurenweise eiweißhaltig, der letztere eiweißfrei. Die Jodverteilung in den Organen zeigt folgendes Bild:

Leber	$F = 0,03$,	$E = 0$,	$K = 0,02$,
Milz	$F = 0$,	—	$K = 0,01$,
Nieren	$F = 0$,	—	$K = 0,02$.

Auch hier hat die Schilddrüsen-saftzufuhr die Tetanie nicht verhindert, trotzdem der eingeführte Saft abgebaut wurde. Bei den untersuchten Organen zeigte in beiden Versuchen nur die Leber einen Gehalt an Filtratjod. Ein positiver Befund beim Filtratjod der einen Milz ist nicht ganz sicher und fällt aus der Reihe der sonstigen Erfahrungen heraus.

Ähnlich wie die beschriebenen verlief ein Versuch mit einem seit 8 Tagen thyreopriven Hammel. Dieser erhielt 130 ccm sterilen Hammelschilddrüsen-saft intravenös. Diese Menge Saft enthielt $F = 0,5$ mg, $K = 10,0$ mg Jod, $K : F$ wie 100 : 5. Nach 5 Stunden wurden 150 ccm Blut abgelassen, die folgende Werte ergaben: $F = 0,09$, $E = 0$, $K = 0,28$ mg Jod, $K : F$ wie 100 : 32. Der Urin war schon am 1. Tag jod-

¹⁾ Auf die physiologische Bedeutung dieser Seite der Frage wird an anderer Stelle eingegangen werden. Blum.

haltig. Insgesamt wurden in den gesammelten 6 Tagesproben 2,5 mg Jod gefunden.

Ebenso zeigte das gleiche Tier 4 Wochen später dieselbe Abbaukraft. Eingespritzt wurden 100 ccm HammelschilddrüSENSaft mit $F = 1,1$ mg und $K = 12,2$ mg Jod, $K:F$ wie $100:9$. Nach $8\frac{1}{2}$ Stunden wurden 175 ccm Blut entzogen. In diesem war $F = 0,12$, $E = 0$, $K = 0,42$ mg Jod, $K:F$ wie $100:28$. Die Urinproben von 4 Tagen enthielten 2,46 mg Jod (Verlust), die zwei folgenden 0,60. Quantitativ können diese Versuche ja nicht ausgewertet werden. Das Wichtigste aber ist das Verhältnis von organischem zu anorganischem Jod einesteils in dem zugeführten Saft und andernteils im Blut schon einige Stunden nach der Einspritzung. Was das Tempo des Abbaus angeht, so war die schnellste Zersetzung beim Hund nach Eingabe von HundeschilddrüSENSaft zu beobachten. Beim Hammel scheint der Abbau dem allein verwendeten arteigenen Saft gegenüber langsamer zu verlaufen; zum mindesten erfolgt die Ausscheidung nicht so schnell. Die thyreopriven Tiere reagierten nicht anders als die normalen. Das berechtigt zu dem Schluß, daß die Schilddrüse bei dem nachgewiesenen Abbau des Thyreoglobulins jedenfalls nicht maßgebend beteiligt ist, sondern im Organismus sich noch ein oder mehrere Organe, die mit dieser Fähigkeit begabt sind, befinden müssen. Daß der Schilddrüse aber damit diese Fähigkeit des Abbaus nicht abgesprochen werden soll, sei nochmals ausdrücklich betont. Der häufige Befund kleiner Mengen anorganischen Jods in der Drüse weist auf Abbau hin.

3. Versuche mit Organextrakten.

Um festzustellen, ob die abbauende Eigenschaft etwa allen Organen zukommt oder nur einem bestimmten Organ, und um gleichzeitig zu erforschen, welches dieses Organ sein könnte, wurden einige Versuche mit Organsäften oder zerkleinerten Organen in folgender Weise angestellt:

Zu einem Gemisch von möglichst sterilem, entweder defibriniertem oder ungerinnbar gemachtem, frischem Blut und einer gemessenen Menge analysierten SchilddrüSENSafts wurden

Organsäfte, die durch Extraktion mit steriler physiologischer Kochsalzlösung erhalten waren, oder aber gewogene Mengen der frisch zerhackten Organe zugesetzt. Während mehrerer Stunden wurde bei Körpertemperatur gehalten und gleichzeitig ein langsamer Strom von Sauerstoff durchgeleitet.

Versuch I.

Angesetzt wurden je 35 ccm steriles defibriniertes Hundeblood mit 20 ccm sterilem HammelschilddrüSENSaft und 10 ccm Extrakt aus Leber, Milz oder Nieren. Die Extrakte waren möglichst konzentriert. Eine 4. Vergleichsprobe bestand aus 45 ccm Blut und 20 ccm SchilddrüSENSaft. Nach 3 $\frac{1}{4}$ Stunden wurde die Acetonfällung vorgenommen. Die Untersuchung gab folgende Werte:

Leber	F = 0,35 mg,	E = 0,
Milz	F = 0,04 „	E = 0,
Nieren	F = 0,04 „	E = 0,
Blut	F = 0,04 „	E = 0.

Die zur Bestimmung verwandten 20 ccm SchilddrüSENSaft enthielten 0,05 mg Filtratjod und 1,54 mg Koagulumjod.

Versuch II.

Hier wurden je 4 g Leber, Milz oder Niere fein gehackt angewendet. Zu einem Gemisch des betreffenden Organhäcksels mit 50 ccm Blut, das aus 9 Teilen defibriniertem Hammelblut und 1 Teil frischem Hundeblood bestand, wurden nach gutem Mischen und Arterialisieren mit Sauerstoff je 10 ccm HammelschilddrüSENSaft zugesetzt. Nach 5 $\frac{1}{2}$ stündiger Dauer des Versuchs Fällung mit der 4fachen Menge Aceton. Die Bestimmung ergab:

Leber	F = 0,05,	E = 0,
Niere	F = 0,01,	E = 0 — Spur,
Milz	F = 0,	E = Spur,
Blut	F = 0,	E = 0.

Die angewandten 10 ccm Saft enthielten 0,01 mg Jod im Filtrat und 0,64 mg im Koagulum.

Versuch III.

Es wurden angesetzt 70 ccm defibriniertes Hundeblood (einige Stunden im Eisschrank aufbewahrt) mit 10 ccm Hammel-

schilddrüsensaft sowie je 20 g Häcksel aus Leber, Niere, Milz. Eine weitere Probe wurde mit Leberpreßsaft, in der Buchner-Presse gewonnen, angestellt. Ein Blindversuch mit Blut (90 ccm) ging daneben. Gefunden:

Leber (Preßsaft)	F = 0,02,	E = 0,02 mg Jod,
Leber zerhackt	F = 0,05,	E = 0,02 " "
Niere	F = 0,02,	E = 0,02 " "
Milz	F = 0,01,	E = 0,01 " "
Blut	F = Spur,	E = 0 " "

Die 10 ccm Schilddrüsensaft enthielten 0,64 mg Jod im Koagulum und 0,01—0,02 mg im Filtrat.

Versuch IV.

Hier wurde frisches Hammelblut, das mit Natriumoxalat ungerinnbar gemacht war, und je 20 g zerhackte Organe angewendet. Angesetzt wurden je 40 ccm Blut, 20 g Organhäcksel und 10 ccm Hammelschilddrüsensaft. Dauer des Versuches 4 Stunden unter ständiger Sauerstoffdurchleitung. Gefunden:

Leber . . .	F = 0,07 mg Jod.	E = 0 bis Spur,
Niere . . .	F = 0,04 " "	E = 0 " "
Milz . . .	F = 0,05 " "	E = 0 " "
Blut . . .	F = 0,03 " "	E = 0 " "

10 ccm des Schilddrüsensaftes enthielten 1,11 mg Jod im Koagulum, 0,03 im Filtrat.

Versuch V.

Angewandt wurden je 60 ccm frisches, mit Natriumoxalat versetztes Pferdeblut und 30 ccm Extrakt aus frisch eingefrorenen Organen vom Pferd. Je 100 g zerhackte Leber, Milz und Niere waren mit 100 ccm destilliertem Wasser extrahiert und durch Mull filtriert worden. Dauer des Versuches unter Sauerstoffdurchleiten 4 Stunden bei 40°. Gefunden:

Leber	F = 0,05,
Niere	F = 0,04,
Milz	F = 0,02,
Blut	F = 0,03.

Die zu jedem Ansatz verwendeten 10 ccm Hammelschilddrüsensaft enthielten im Koagulum 1,11 mg Jod, im Filtrat 0,03 mg.

Die Leberpräparate haben bei vorstehenden Versuchen fast in allen Fällen eine gewisse Vermehrung des Filtratjods verursacht, wenn auch der Abbau verschieden stark war und bei dem Versuch mit Leberpreßsaft ein deutlicher Nachweis nicht gelang. Bei Milz und Niere sowie beim Blut allein konnte eine Vermehrung des Filtratjods nicht nachgewiesen werden. Auch das Ungerinnbarmachen des Bluts mit Oxalat störte den Abbau nicht merklich.

Es folgen nunmehr einige Versuche mit frischem, gut gereinigtem Hundedarm, zum Teil in Form von Brei zermahlen, zum Teil als Mazerationssaft, der durch 1½ tagelanges Stehen im Brutschrank mit Toluol oder Chloroform aus dem Frischsaft erhalten war. Angesetzt wurden 10 g Darmbrei, 20 ccm Schilddrüsenensaft (Hammel) mit Toluol während 1½ Tagen im Brutschrank. Gefunden:

$$K = 2,50, \quad F = 0,11.$$

In einem zweiten Versuch waren 20 g Darmbrei mit 20 ccm Schilddrüsenensaft ebenso behandelt worden. Gefunden:

$$K = 2,53, \quad F = 0,10.$$

Mit 10 ccm Mazerationssaft und 10 ccm Schilddrüsenensaft wurde nach 2stündigem Stehen bei 40° gefunden $F = 0,03$, bei 24stündigem Stehen ebenfalls $F = 0,03$. Denselben Wert ergab eine gleiche Menge länger mazerierter Darmsaft. Von dem angewendeten Schilddrüsenensaft enthielten 10 ccm 1,32 mg im Koagulum und 0,01 im Filtrat.

Die Beobachtungen ergeben, daß der frische Darmbrei eine spaltende Wirkung ausgeübt hat. Man wird das Auftreten von acetonlöslichem Jod der Wirkung der Verdauungsfermente zuschreiben müssen. Frühere Beobachtungen hatten uns gezeigt, daß mit tryptischen Fermenten im Brutschrank behandelte Schilddrüsenensaft durch Aceton bei genügend langer Einwirkung des Fermentes überhaupt nicht mehr ausgefällt wird. Ob dabei ein Abbau bis zu Jodiden stattgefunden hat, ist jedoch noch fraglich. Die angewendeten Mazerationssäfte zeigten im Gegensatz zu dem frischen Organbrei höchstens eine schwach abbauende Wirkung.

4. Durchblutungsversuche.

Die definitive Entscheidung über die abbauende Wirkung der Leber gegenüber Schilddrüsenensaft konnte auf direktem Wege mittels der Durchblutungsmethode erbracht werden. Angewandt wurde das am hiesigen physiol.-chemischen Institut ausgearbeitete Verfahren und die Apparatur, die in zahlreichen Untersuchungen von G. Embden und seinen Mitarbeitern sich bewährt haben¹⁾.

Nachdem durch Entbluten bzw. Aderlaß eine genügende Menge Blut gewonnen war, wurde dieses defibriert und in den meisten Fällen im Apparat mit der betreffenden Menge analysierten Schilddrüsenstoffes (der auf Sterilität geprüft war) vermengt. Dann wurde die frische Leber des Bluttieres eingeschaltet und der Zirkulationsapparat in Gang gesetzt. Die Dauer der Durchblutung betrug im allgemeinen 3 Stunden, die Temperatur ca. 38°. Das umlaufende Blut wurde mit Sauerstoff gesättigt. Die Untersuchung des Blutes bei Beginn und nach Beendigung der Durchblutung erfolgte nach dem Acetonverfahren.

Versuch I.

Zur Verarbeitung gelangten 1400 ccm frisches defibriertes Hundeblut und 110 ccm klarer steriler Schilddrüsenensaft, aus 12 Hundeschilddrüsen durch Extraktion und Pröscher-Filtrierung gewonnen. Dieser Saft enthielt, nach Bestimmung einer aliquoten Menge, 3,3 mg Jod im Koagulum und 0 im Filtrat. Gesamtmenge des Gemisches 1510 ccm. Nach 10 Minuten langem Zirkulieren im Apparat vor Einsetzen der Leber werden 150 ccm des Gemisches zur Untersuchung entnommen; dann wird die Durchblutung in Gang gesetzt. Nach 3 $\frac{1}{2}$ Stunden wird unterbrochen und mit physiol. Na Cl-Lösung die Leber nachgespült. Blut samt Spülflüssigkeit — 1340 ccm — werden in 2 Portionen verarbeitet. Die Leber wird zerkleinert und in Aceton gelegt.

¹⁾ Vgl. u. a. G. Embden und K. Glaessner, Hofmeisters Beiträge Bd. 1, S. 310—327 (1902) und im allgemeinen Abderhaldens Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden Bd. III 1, S. 321 u. 358 (1. Aufl. 1910).

Das Filtrat der Leber wird den zwei Blutproben zu gleichen Teilen zugesetzt und die Acetonfiltrate davon in der üblichen Weise aufgearbeitet.

Das Vorprobeblut (150 ccm Gemisch) enthielt $F = 0$, $K = 0,035$, also ebenso wie der ursprünglich verwendete Saft kein Filtratjod. Die zwei Proben (je 670 ccm und die zugesetzte Hälfte des Leberfiltrates) enthielten im Acetonfiltrat 0,03 bzw. 0,04 mg F, zusammen 0,07 mg. Die Koagula wurden nicht analysiert. Es ergibt sich aus dem Versuch, daß nach $3\frac{1}{2}$ stündiger Durchblutung ein vorher von Filtratjod freies Gemisch eine merkliche Menge Filtratjod enthält.

Versuch II.

Hier wurde versucht, auch die Koagula in die quantitative Untersuchung einzubeziehen und so gewissermaßen eine Bilanz des Jods in allen Fraktionen aufzustellen.

Blutmenge 1430 ccm (1240 ccm + 190 ccm von dem Tier, dessen Leber verwendet wurde). SchilddrüSENSaft 110 ccm (Hammel) pasteurisiert.

K: 5,39 mg Jod

F: 0,16 . .

Vorprobeblutgemisch 130 ccm sogleich nach dem Einsetzen der Leber und Beginn der Zirkulation entnommen und gefällt.

$F = 0,04$, $E = 0$, $K = 0,32$ mg Jod.

Berechnet waren: $F = 0,014$, $K = 0,46$. .

Die Vermischung war hier noch nicht genügend.

Nach 3stündigem Gang wird das Blut herausgepumpt, mit physiol. Kochsalzlösung nachgespült und die Gesamtmenge von 1750 ccm in zwei Hälften zur Untersuchung gebracht. Die zerkleinerte Leber kommt in Aceton und wird ebenso untersucht.

Erste Hälfte: $F = 0,27$, $E = 0$, $K = 1,47$ mg Jod (Verlust!)

Zweite Hälfte: $F = 0,22$, $E = 0,02$, $K = 1,82$. .

Leber: $F = 0,22$, $E = 0$, $K = 1,01$. .

Nach Entnahme der 130 ccm Gemisch zur Vorprobe gleich nach dem Einsetzen bleiben

1410 ccm im Apparat mit 4,98 mg im Koag.
 0,14 „ im Filtrat
 —————
 zusammen 5,07 mg Jod.

In den beiden Blutproben zusammen F u. E 0,51 mg, K = 3,29 mg Jod
 In der Leber F 0,22 „ K = 0,79 „ „
 —————
 insgesamt F 0,73 mg, K = 4,08 mg Jod
 zusammen 4,81 mg Jod.

Wird die erste Bestimmung von K = 1,47 mg Jod, bei der ein kleiner Verlust eingetreten war, als etwas zu niedrig eliminiert und die zweite als maßgebend angesehen, so sind die Werte

F + E 0,51, K = 3,64 mg Jod
 mit Einrechnung der Leber F = 0,73, K = 4,43 „ „
 zusammen 5,16 mg Jod.

Rechnungsmäßig sind 5,07 mg zu erwarten.

Der Versuch zeigt also, daß eine Verfolgung der Jodkomponente des Schilddrüsensaftes nach der angewandten Methodik quantitativ möglich ist. Die Vermehrung des Filtratjods, also Jodalkali + lösliche jodhaltige Peptide und andere Abbaustufen und eventuelle Jodfettkörper, geht aus den Zahlen deutlich hervor: Vorher 0,14 mg, nachher 0,73 mg. Vermehrung um das 5,2fache.

Versuch III.

Hier wurde angestrebt, das Filtratjod, dessen Auftreten bzw. Vermehrung sich bisher ergeben hatte, durch Einteilung in verschiedene Fraktionen näher kennen zu lernen. Aus diesem Grunde wurden größere Mengen von Schilddrüsensaft als bisher zum Versuch verwendet, nämlich 450 ccm Hammelschilddrüsensaft mit insgesamt 54,9 mg Jod im Koagulum, 0,72 mg im Filtrat.

Die Menge des angewendeten Hundebldes betrug 1400 ccm, das Gewicht der angewendeten Leber 410 g. 8 Minuten nach begonnener Durchblutung wurden 2 Vorproben entnommen, 50 und 100 ccm, so daß im Kreislauf verblieben 1700 ccm mit K = 50,5 mg, F = 0,68 mg Jod. Dauer des Versuches 3 Stunden. Das Blut wird herausgepumpt, 1220 ccm, und zur

Untersuchung halbiert. Die Spüllösung und die zerkleinerte Leber werden zusammen mit Aceton behandelt. Darin sind enthalten

$$F = 0,382 \text{ mg Jod. } E = 0.$$

Die eine Hälfte des Blutgemisches wurde zur üblichen Trennung der Acetonbehandlung unterworfen (4 Vol.).

Gefunden $F = 1,29 \text{ mg Jod. } E = 0,195 \text{ mg Jod.}$

Zusammen abgebautes acetonlösliches Jod $1,485 \text{ mg Jod.}$

Aufs ganze berechnet $2,97 \text{ mg Jod im Blutgemisch}$

$0,382 \text{ mg Jod im Leberextrakt}$

$3,352 \text{ mg Jod Filtratjod}$

während nur $0,68 \text{ mg}$ vorher vorhanden waren.

Die für diese Hälfte des Versuchs bestimmte Vorprobe von 50 ccm enthielt im $F = 0,0249 \text{ mg Jod; } E = 0$. Auf die 1700 ccm Rest berechnet $0,847 \text{ mg Filtratjod}$, was einen etwas höheren Wert ergibt, als der eben errechnete von $0,68 \text{ mg}$. Das ist aber nicht auffallend, da von der kleinen Probe von 50 ccm auf 1700 ccm umgerechnet wird. Die $0,0049 \text{ mg Zuviel}$ machen bereits diese Differenz aus. Die Vorprobe spricht also nicht gegen das Resultat des Versuches, nach dem die Menge des Filtratjods von $0,68 \text{ mg}$ auf $3,352 \text{ mg}$ gestiegen ist, d. h. $4,93$ mal mehr geworden ist in der kurzen Zeit von 3 Stunden und mit artfremdem Schilddrüsenensaft.

Die zweite Hälfte des Versuches war der Trennung des Filtratjods gewidmet; doch gelang es noch nicht, eine restlose Aufklärung zu erreichen. Spätere Versuche werden darüber Klarheit bringen müssen, wie weit das Filtratjod bei der Durchblutung schon aus Jodidjod besteht oder ob die Hauptmenge den jodhaltigen Spaltprodukten des Thyreoglobulins angehört. Voraussetzung dazu ist, daß es gelingt, eine Methode zu finden, die eine möglichst saubere Trennung und quantitative Erfassung der in Frage kommenden Substanzen gestattet. Es sind dies Jodide, eventuell als Salzverbindungen von Eiweiß oder Eiweißspaltlingen vorliegend; jodierte Eiweißspaltlinge d. h. solche, deren zyklische Kerne durch Substitution eingetretenes Kernjod enthalten, und drittens jod-

haltige Fettkörper. Diese Aufgabe ist um so schwieriger, als es sich um recht wenig bekannte Substanzen handelt.

Das angewandte Verfahren der Trennung war das folgende: Acetonfällung wie gewöhnlich. Es wurde erhalten ein Filtrat F und nach nochmaliger Acetonbehandlung ein Extrakt E. Aus dem Filtrat F wurde nach Zusatz von etwas Alkali¹⁾ und Glycerin zur Vermeidung des Schäumens das Aceton abdestilliert und die verbliebene wäßrige Flüssigkeit mit Schwefelsäure angesäuert und 6mal ausgeäthert. Die Ätherextrakte wurden nach dem Zusammengeben mit H₂O gewaschen und dieses Waschwasser dann mit der wäßrigen Lösung vereinigt.

A. Ätherlösung. Nach dem Abdestillieren hinterblieb ein braungelbes Öl. Durch Aceton wird ein Teil davon gefällt und in mehr Aceton wieder zum Teil gelöst. Durch Filtration werden 2 Teile erhalten. Nach Versetzen mit Alkali wird der acetonlösliche Teil durch Abdestillieren vom Aceton befreit und verascht zur Jodbestimmung; analog der im Aceton unlösliche Teil.

Acetonlöslicher Teil: Jodfett usw.: 0,033 mg Jod.

Acetonunlöslicher Teil: Jod = 0.

B. Wäßrige Lösung nach der Ätherextraktion nebst Waschwasser. Zunächst wird neutralisiert und durch mäßiges Erwärmen der Äther vertrieben. Hierauf wird mit Silbernitrat versetzt und der Niederschlag mit verdünnter Salpetersäure heiß ausgewaschen. Erhalten werden so drei Fraktionen: 1. Filtrat — enthält diejenigen ätherunlöslichen Jodsubstanzen, die keine oder wasserlösliche Ag-Salze bilden. 2. Salpetersaures Extrakt — enthält diejenigen Jodsubstanzen, deren Ag-Salze durch Salpetersäure gelöst werden und in Wasser ungelöst bleiben. 3. Halogensilberniederschläge. Diese Fraktion 3 wurde noch durch Ammoniakbehandlung in einen löslichen und unlöslichen Teil (AgJ) getrennt und letzterer mit Kaliumsulfid in Sodalösung durch wiederholtes Kochen umgesetzt

¹⁾ Die Wirkung des Alkalis auf die unbekanntenen Jodsubstanzen kann vielleicht zur Eliminierung von Jod als Jodalkali führen.

und das Filtrat zur Jodbestimmung gebracht. Diese Umsetzung des AgJ mit Ammonsulfid und Alkalisulfid ist bei Vergleichsversuchen als annähernd vollständig befunden worden.

Es wurden in den vier Fraktionen folgende J-Werte gefunden:

1. Filtrat der AgNO ₃ -Fällung	0,9	mg Jod
2. Salpetersäureextrakt der Ag-Fällung	0	" "
3. Ammoniaklöslicher Teil	0	" "
4. Ammoniakunlöslicher Teil	0,116	" "

Zu diesem Jod aus dem ersten Acetonfiltrat kommt noch hinzu, was im zweiten Extrakt gefunden wurde. Das Aceton wurde ohne Zusatz abdestilliert und der mit Wasser verdünnte, mit etwas Schwefelsäure angesäuerte Rückstand mit Äther behandelt. Der Ätherextrakt war jodfrei. Der Rückstand wurde über das Silbersalz gereinigt und das Jodsilber wie oben zersetzt. Gefunden wurden 0,068 mg Jod. Auf den ganzen Blutanteil gerechnet 0,136 mg Jod.

Werden die Zahlen auf das ganze wieder erhaltene Blutgemisch nach der Durchblutung (1220 ccm) umgerechnet, so sind erhalten:

Fettjod (F)	0,066	mg	
Peptidjod (F)	1,800	"	
Jodidjod (F)	0,232 ¹⁾	"	} zusammen 0,368 mg Jodidjod
" (E)	0,136	"	
	<u>2,234</u>	mg	im Blutanteil (2,234 mg)
dazu F von der Leber	<u>0,382</u>	"	
	2,616	mg	abgebautes Jod.

Gegenüber dem Ergebnis der ersten Hälfte, wo 3,352 mg abgebautes Jod gefunden wurden, ist der Verlust von 0,736 mg bei der großen Anzahl von Manipulationen nichts Erstaunliches. Wenn auch aus einem einzelnen Versuch noch keine weitgehenden Schlüsse in quantitativer Beziehung gezogen werden sollen, so kann doch gesagt werden, daß der Abbau des

¹⁾ Zu wenig wegen der Umsetzung und vielen Prozeduren; vielleicht andererseits zu viel wegen des NaOH-Zusatzes beim Abdestillieren des Acetonfiltrats, der das Verhältnis Peptidjod: Jodidjod unsicher macht.

Schilddrüseneiweißes durch die Leber unserem Verständnis näher gebracht ist. Das Vorkommen von reichlich „Peptidjod“, d. h. in Äther unlöslichen, durch AgNO_3 nicht fällbaren Jodsubstanzen neben weniger Jodidjod zeigt den Weg des Abbaues in aller Deutlichkeit. Das Wahrscheinlichste ist, daß die Leber beide Stufen des Abbaues mit ihren Fermenten zustande bringt, doch wird die Frage insofern kompliziert, als nun noch entschieden werden müßte, ob der Abbau der zweiten Stufe, Jodpeptid zu Jodalkali, etwa auch von anderen Organen besorgt werden kann. Der ganze Fragenkomplex wird erst nach einem vorausgegangenen Studium der jodhaltigen Abbauprodukte der Jodeiweißkörper näher bearbeitet werden können. Auch die Bezeichnung der in der Fettfraktion gefundenen Jodsubstanzen als „Jodfett“ möchten wir als eine vorläufige betrachten. Es sind ja äther- und acetonlösliche niedrige Eiweißbausteine durchaus denkbar und wir glauben solche in kleinen Mengen auch schon in der Hand gehabt zu haben, ohne sie rein erhalten zu können, da der bisher einzige Punkt, durch den sie sich von den beigemengten Substanzen unterscheiden lassen, der übrigens sehr geringe Jodgehalt ist. Unter diesen Umständen ist eine Charakterisierung und Trennung eine sehr schwierige Aufgabe.

Zusammenfassung.

1. Normale Tiere bauen das in den Blutkreislauf eingeführte Jodeiweiß der Schilddrüse in kurzer Zeit ab, was durch die Zunahme von acetonlöslichem Jod (in Form von Jodiden und niedrigen Spaltprodukten) im Blut und dem schnellen Auftreten von Jodid im Urin bewiesen wird.
2. Thyreoprive Tiere verhalten sich ebenso. Es ist demnach der Abbau des Thyreoglobulins nicht an die Thyreoidea allein gebunden (wie der Aufbau), sondern kann auch durch ein oder mehrere andere Organe erfolgen.
3. Von den daraufhin untersuchten Organen, die zerkleinert oder als Presssäfte *in vitro* geprüft wurden, wirkte nur die Leber in deutlicher Weise abbauend.
4. Die abbauende Wirkung der Leber konnte auch im über-

lebenden Organ in drei Durchblutungsversuchen nachgewiesen werden.

5. Bei einem der Versuche wurde das abgebaute Jod in drei Fraktionen zerlegt. Der größte Teil dürfte jodhaltigen Peptiden angehören; ein weiterer beträchtlicher Teil aus Jodiden bestehen. Ein sehr geringer Teil wird in der Fettfraktion gefunden. Die Leber baut also das Schilddrüseneiweiß zu Eiweißspaltlingen, aber auch gleichzeitig einen Teil vollständig bis zum Jodidjod ab, das dann der Ausscheidung unterliegt.