

Studien zur Physiologie der Schilddrüse.

VI. Mitteilung.

Jodspeicherung und Jodbindung im Organismus.

Von

F. Blum und R. Grützner.

(Aus dem biologischen Institut zu Frankfurt a. M.)

(Der Redaktion zugegangen am 29. Juli 1914.)

In einer früheren Mitteilung¹⁾ wurde auf den Unterschied zwischen Jodspeicherung und Jodbindung hingewiesen. Unter Speicherung wollen wir ein Festhaften von jodhaltigen Stoffen in bestimmten Teilen des Organismus verstehen, welches nicht mit einer chemischen Umsetzung und dem Eintreten des Jods in eine neue chemische Verbindung verknüpft ist. Hierher gehören Beimengung, Adsorption und selektive Löslichkeit. Die relative Anhäufung von Jod in den lipoidreichen Geweben, die bei Jodoform und Jodanilinderivaten²⁾ eine besondere Anziehungskraft der lipoiden Elemente für diese Jodpräparate erweist, kann als Beispiel für eine solche Speicherung gelten; aber nur dann, wenn eine chemische Umsetzung des Präparats in den betreffenden Zellen nicht stattgefunden hat. Eine Jodspeicherung aus dem schwachjodhaltigen Meerwasser findet in großem Umfang bei den jodhaltigen Tangen (*Fucus*, *Laminaria*) statt.

Von der Speicherung zu unterscheiden ist die Jodumsetzung, d. h. die Loslösung des Jods aus der zugeführten Verbindung und Einführung des Halogens in die chemische Substanz der Zelle. Die Vermehrung des Jodgehalts im Schilddrüsenweiß³⁾ bei Eingabe von Jodalkalien oder von Jod-

¹⁾ Diese Zeitschr. 91 [1914] 400ff.

²⁾ O. Loeb. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 56 (1907) 320.

³⁾ l. c. IV. Mitteilg. S. 421.

präparaten, die im Körper Jod als Jodalkali abspalten, ist ein Beispiel für diese Umsetzung. Aus dem Jodalkali wird durch unbekannte, soweit bis jetzt sich sagen läßt, für die Schilddrüse spezifische Kräfte das Jod losgelöst und in den Verband der Eiweißsubstanzen der Drüse übergeführt, wahrscheinlich in die zyklischen Kerne des Eiweißmoleküls. Dieser Vorgang erfordert, daß man der Zelle der Schilddrüse die oxydierende Fähigkeit, Jod aus Jodalkali freizumachen, «Jodase» zuschreibt. Die Anlagerung freien Jods an das vorhandene Eiweiß¹⁾ bzw. an ungesättigte Substanzen anderer Art ist die nächste Stufe der Reaktion.

Eine Zwischenstufe von Speicherung und Bindung ist in der Entstehung von Additionsverbindungen gegeben, wie es z. B. die Bildung von Acidalbumin ist, etwa aus Jodwasserstoff und Eiweiß.

Für die Schilddrüse ist die Fähigkeit der Jodbindung im Sinne der oben definierten Umsetzung als eine charakteristische Lebenstätigkeit nachgewiesen. Teilt sie nun diese Fähigkeit mit anderen Organen oder befindet sie sich in einer besonderen Stellung dem Jod gegenüber? Wie steht es mit Jodbindung und Jodspeicherung in anderen Organen?

Zur Beantwortung dieser und ähnlicher Fragen darf man sich natürlich nicht mit einer Untersuchung wahllos entnommener Organe verschiedenartiger Tiere begnügen, sondern man muß geeignete Auswahl treffen und methodische Vorbedingungen erfüllen. Eine wichtige Vorbedingung ist eine gute analytische Methode zum Nachweis kleinster Jodmengen, die möglichste Sicherheit gegen die Vortäuschung von Spuren dieses Elements bietet. Diese Voraussetzung wird wie früher nachgewiesen, nicht erfüllt durch die Methode von Justus,²⁾ dessen Befunde über den Jodgehalt tierischer Organe in die Literatur übergegangen sind. Die Art der Untersuchung würde aber, selbst wenn sie einwandfrei wäre,³⁾ bestenfalls nur zu einer vorläufigen Orientierung darüber führen, ob bei einem bestimmten

¹⁾ Blum u. Vaubel. Journal f. pr. Chem. 57 [1898] 365.

²⁾ Virch. Arch. 170. S. 501 u. 176. S. 1.

³⁾ Diese Zeitschr. Bd. 85 [1913]. I. Mitteilung. S. 429.

Tier zu einem bestimmten Moment in irgend einem Organ Jod vorhanden war. Die zahlreichen Jodverteilungsversuche von pharmakologischer Seite haben gezeigt, daß in einzelnen Teilen des Organismus sich nach Jodalkalizufuhr Jod länger nachweisen läßt, als in anderen. Nach genügend langer Zeit geben aber auch diese wieder das Jod ab, soweit sie dazu die Möglichkeit haben. Für diese Auffassung lassen sich Versuche von (O. Loeb¹⁾) anführen, bei denen ein Tier, das längere Zeit nach der Jodeingabe getötet wurde, in allen Organen gegenüber dem kürzere Zeit danach getöteten Tier eine Abnahme des Jodgehalts zeigte, nur nicht in der Schilddrüse.

Unterbleibt jegliche Jodzufuhr, so sind alle Organe mit Ausnahme der Schilddrüse jodfrei. Bei dem Jodgehalt mancher Nahrungsmittel aber kann das Halogen im Körper zeitweilig vorhanden sein; dann gibt die Untersuchung der verschiedenen Organe eines Tieres ein Bild von dem augenblicklichen zufälligen Stand der Jodverteilung. Eine solche Tabelle kann, die Brauchbarkeit der Methode vorausgesetzt, Aufschlüsse geben darüber, ob irgendwo eine Speicherung von Jodverbindungen stattgefunden hat. Der Nachweis ist beispielsweise sicher erbracht für Haare und Klauen.²⁾ Die Arbeit von Howald zeigt zugleich, daß mindestens ein Teil des Jods in den Haaren sich in organischer Bindung befindet, wenn vorher eine Jodmedikation stattgefunden hat. Das Jod ist also nicht nur aufgespeichert, sondern auch umgesetzt worden. Aber diese Umsetzung entspringt sicherlich keinem speziellen Lebensprozeß, sondern ist hervorgerufen durch die Einwirkung der Luft und des Lichtes auf das in den unbelebten Gebilden abgelagerte Jodalkali. Es entsteht, wie in der Arzneiflasche, unter diesen Einflüssen freies Jod und dieses setzt sich mit dem Keratin des Haares um. Die Speicherung und Umsetzung von Jod in den Haaren hat also nichts gemein mit jenem Halogenstoffwechsel, den wir oben skizziert haben. Die Haare, die Jod aufgenommen haben, besitzen keine Gelegenheit, es wieder abzugeben, wodurch sich die Speicherung erklärt und die

¹⁾ l. c.

²⁾ Howald, Diese Zeitschr., Bd. 23 [1897], S. 209.

Umsetzung ist das Resultat äußerer Einflüsse und nicht von Lebensprozessen. Lebensprozesse liegen da vor, wo ein Jodstoffwechsel nachweisbar ist. Hierzu genügt aber nicht der Nachweis einer Speicherung an einer bestimmten Stelle, sondern es ist darzutun, daß mit der Speicherung auch eine Jodbindung und -Umsetzung unabhängig von äußeren Einflüssen einhergeht. So läßt sich das gewissermaßen auf der Durchreise befindliche Jod von dem zu irgend einem Zwecke festgelegten und umgesetzten unterscheiden. Daher kommen wir zu der Forderung, daß von Jodbindung, spezieller von der Bindung des Jods an organische Substanz, nur gesprochen wird, wenn eine Beimengung von anorganischem Jod in dem betreffenden Organ entweder von vornherein unmöglich gemacht oder etwa vorhandenes anorganisches Jod durch besondere Maßregeln restlos entfernt worden ist.

Eine Methodik zur Trennung von organisch gebundenem und anorganischem Jod ist also eine weitere Voraussetzung für die Beantwortung all dieser Fragen. Zur Trennung von Jodalkali, Jodfetten und niedrigen leichtlöslichen Spaltprodukten organischer Jodverbindungen einerseits und jodierter Eiweißkörper andererseits hat uns die Verwendung von Aceton als Fällungs- bzw. Extraktionsmittel beste Dienste geleistet.

Der erste Teil der vorliegenden Arbeit befaßt sich demnach mit den Methoden, die zur Trennung von anorganischem und organischem Jod, wie wir der Kürze halber sagen wollen, vorgeschlagen worden sind, und bringt Material bei zum Vergleiche dieser Verfahren mit dem von uns angewendeten Acetonverfahren. Der zweite Teil enthält unsere Untersuchungen verschiedener tierischer Organe auf ihren Gehalt an organisch gebundenem und anorganischem Jod.

Die meisten Trennungsversuche beziehen sich auf die Abtrennung von Jodalkali. Es ist aber auch mit der Möglichkeit zu rechnen, daß Jodide anderer Basen vorkommen, die von den organischen Lösungsmitteln nicht gelöst werden. Bezüglich des Alkohols macht Löb (l. c.) auf das Calcium- und Eisenjodid aufmerksam. Wir konstatierten für das Aceton folgendes:

5%ige wässrige Lösungen von CaJ_2 und FeJ_3 wurden selbst durch 6 Vol. Aceton nicht gefällt.

CaJ_2 löst sich in 80%igem Aceton leichtest auf; auch in reinstem Aceton ergab sich eine beträchtliche Löslichkeit. 10 ccm Aceton nahmen 1,85 g CaJ_2 auf.

FeJ_3 löst sich beträchtlich in 80%igem Aceton. Die kaltgesättigte Lösung enthält etwa 0,37 g in 10 ccm. Letzteres Salz zersetzt sich ziemlich leicht unter Freiwerden von Jod. Bei der verhältnismäßig guten Löslichkeit auch des Eisenjodürs in 80%igem Aceton ist aber die Gefahr einer Bildung organischen Jods während der Acetonextraktion sehr gering.

Für das Acetonverfahren bestehen hiernach keine Bedenken in der eventuellen Anwesenheit der genannten Jodide.

A. Methodisches über die Trennung von anorganischem und organischem Jod.

a) die Extraktion im Soxhletapparat.

Die Entfernung des Jodalkalis aus Eiweißgemengen wird von verschiedenen Autoren, besonders O. Loeb¹⁾, bewerkstelligt — manchmal nach vorangegangener Fällung und einmaliger Extraktion mit Alkohol —, indem das ganze Gemisch von Eiweißsubstanzen z. B. Organe in feinzerteilter Form getrocknet, als Pulver abgewogen und im Soxhletschen Apparat mit Alkohol erschöpfend extrahiert wird, d. h. so lange, bis die letzten Extrakte jodfrei erhalten werden. Das im Rückstand verbleibende Jod wird als organisch gebunden angesehen. Unsere früheren Erfahrungen,²⁾ die uns gezeigt hatten, daß aus Blut sich Jodkali nicht mehr vollständig mit Aceton ausziehen ließ, wenn die Substanz eingetrocknet worden war, veranlaßten uns, eine Nachprüfung in dem Sinne vorzunehmen, ob wirklich mit Alkohol oder mit Aceton eine vollständige Jodkaliextraktion derartiger zur Trockne gebrachter Pulver möglich ist. Daneben wurde mit unserer Acetontrennung ein Vergleichsversuch durchgeführt.

¹⁾ l. c.

²⁾ Vgl. II. und III. Mitteilg. dieser Zeitschrift. l. c. sowie Bd. 91 [1914], S. 450.

Angewendet wurden 3 Proben zu 25 ccm Hammelblut (Trockengewicht 6—8 g) mit einem Gehalt von je 1,18 mg Jod als Jodkali zugesetzt. 2 Proben wurden in geräumigen Reibschalen im Trockenschrank zur Trockne gebracht und fein zerrieben; hierauf mit Alkohol bzw. Aceton angefeuchtet, nochmals zerrieben und wieder eingetrocknet. Die feine Masse wurde in Extraktionshülsen überführt und mehrere Tage die eine Probe mit Alkohol, die andere mit Aceton im Soxhlet extrahiert. Nachdem am 3. und 4. Tage jodfreie Extrakte erhalten worden waren, wurde der Rückstand zur Veraschung gebracht und auf Jod geprüft. Er enthielt bei der Alkohol-extraktion noch 0,34 mg Jod, bei der Acetonextraktion 0,78 mg Jod. Somit sind in einem Fall nahezu ein Drittel, im anderen über die Hälfte des Jodkalis trotz mehrtägigen Extrahierens in dem Rückstand verblieben. Diese Mengen wären also für organisch gebundenes Jod angesehen worden. Nach unserem Acetonverfahren dagegen kamen wir in viel kürzerer Zeit zum Resultat.

Filtrat	1,12 mg Jod statt 1,18 mg.
Acetonextrakt	0 „ „
Koagulum	0 „ „

Ein zweiter Versuch, bei dem es vermieden wurde, das Jodkali mit dem Eiweiß zusammen trocken zu erhitzen, bei dem aber ebensowenig eine völlige Extraktion erreicht wurde, war dieser:

Zu 10 g Casein (jodfrei) wurden in der Extraktionshülse 0,0095 g KJ = 7,3 mg Jod eingewogen und mit einem dünnen Draht gemengt. Nach dem dritten und vierten Tage der Alkoholextraktion enthielten die Extrakte nur noch Spuren Jod. Trotzdem waren noch 5 mg Jod in dem Rückstand verblieben.

Besonders betonen möchten wir noch, daß zur Beantwortung der Frage, ob in dem Eiweißgemisch sich organisch gebundenes Jod befindet, es nicht genügend ist, wenn mit der angewandten Methode in dem einen oder anderen Versuch die Menge des zugesetzten Jodkalis in den Extrakten scheinbar quantitativ wieder erhalten wird. Eine Methode, die an Eiweiß gebundenes, umgesetztes Jod nachweisen soll, muß zugesetztes Jodkali restlos zu entfernen gestatten und ein sicheres Kenn-

zeichen für Vollendung der Extraktion besitzen. Das Kriterium, Fehlen von Jod in den letzten Extrakten der Soxhletextraktion, genügt nicht, wie unsere Beispiele zeigen. Es muß nach Zusatz von Jodkali der ausgezogene Rückstand als jodfrei nachgewiesen werden können.

Wenn nun auch die Verwendung kleinerer Mengen von Substanz (Loeb verwendet meist 1 g Trockensubstanz) günstigere Resultate geben mag, so ist doch, abgesehen davon, daß die Beschränkung auf so kleine Mengen für die Beantwortung mancher Fragen eine Erschwerung bedeutet, mit Nachdruck zu betonen, daß vollständige Extraktionen auf Grund obiger Versuche selbst dann noch nicht gewährleistet sind. Und deshalb bedürfen alle Befunde, bei denen der Eintritt von Jod in organische Bindung aus einem positiven Jodbefund im Rückstand nach Soxhletextraktion der eingetrockneten Masse erschlossen wurde, einer nochmaligen Prüfung mit zuverlässigeren Verfahren.

Die interessanten Beobachtungen von Loeb,¹⁾ der in syphilitischen Organen nach Eingabe von Jodkali eine Speicherung von Jod in fester Bindung mit der Soxhletextraktion nachgewiesen hat, müssen deshalb, um definitiv zu werden, einer Nachprüfung etwa mit dem Acetonverfahren unterworfen werden. Sie sind es wohl wert wegen der Wichtigkeit und der inneren Wahrscheinlichkeit der erschlossenen Umsetzung. Es ist sehr wohl möglich, daß in syphilitischem Gewebe nach stattgehabter Jodmedikation eine Bindung des Halogens — nach unserer Terminologie sowohl Speicherung als Umsetzung — stattfindet. In einer einwandfrei nachgewiesenen Jodumsetzung hätten wir eine chemische Unterlage für die therapeutische Wirkung der Jodpräparate bei Syphilis und außerdem einen vielleicht als Entgiftung anzufassenden Vorgang, dessen physiologische Parallele wir in der Schilddrüse vor uns haben.

b) Die Trennung durch Dialyse.²⁾

Die Trennung von zugesetztem Jodkali aus einer Eiweißlösung, z. B. Blut, durch Dialyse erfordert eine äußerst lange

¹⁾ Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 69 [1912], S. 108.

²⁾ Vgl. hierzu Gley und Bourcet, Comptes rendus, Bd. 130 [1900], S. 172, sowie unsere V. Mitteilung, Diese Zeitschr., Bd. 91, S. 451.

Der Schlauchinhalt wurde gefällt mit 4 Vol. Aceton.

Filtrat	0,02 mg Jod.
Extrakt	0 „ „
Koagulum	0

Total 4,69 mg Jod. Zugesezt 4,73 mg Jod.

Der Versuch lehrt: Wenn es nur darauf ankommt, die Menge des Jodalkalienteils einer Lösung festzustellen, kann man sich mit einer mehrtägigen Dialyse begnügen, die unterbrochen wird, wenn eines der Außenwässer keinen Jodgehalt mehr zeigt. In unserem Fall wäre dies nach 3 tägiger Dialyse eingetreten, bei etwa 12 maligem Wechsel des Außenwassers. Die bis dahin herausdiffundierten Quantitäten KJ entsprechen beinahe genau der zugesetzten Menge (4,67 statt 4,73 mg). Setzt man aber jene kleinsten in der Innenlösung zurückgebliebenen Mengen Jods als organisch gebunden in Rechnung, so wäre das eine Fehldeutung; denn bei Anwendung der Acetontrennung finden sich diese kleinsten Mengen Jod nicht im Koagulum sondern im Filtratanteil, sind also Reste des zugesetzten Jodalkalis.

Soviel über die Abtrennung von beigemischtem Jodalkali aus Eiweißlösung mit Hilfe der Dialyse.

Beträchtlich ungünstiger gestaltet sich die Sache aber, wenn eine (auch nur ganz lockere) Bindung zwischen dem Eiweiß und dem Salz vorliegt. Es ist bekannt, daß verschiedene Salze, Säuren und Basen mit dem Eiweiß eine Art Doppelverbindung eingehen, die vielfach schon durch einfache Koagulation (durch Hitze, Alkohol oder ähnliches) zerlegt werden. Die Dialyse vermag die an sich diffundierfähigen Salze nicht vom Eiweiß loszulösen. Sie erlaubt bestenfalls die Trennung von zugesetztem Salz, das auch in keine lockere Bindung eingegangen ist. Zur Erkennung von solchem Jod aber, das an das Eiweiß locker gebunden ist, ohne es substituiert zu haben, kann sie nicht Verwendung finden.

Ein Hammelschilddrüsenextrakt enthielt in 20 ccm

0,054 mg Jod in acetonlöslicher Form,

2,63 „ „ „ acetonfällbarer „

100 ccm dieses Saftes wurden nun im Dialysierschlauch

mit Toluol gegen fließendes Wasser angesetzt. Nach 48 Stunden wurden 20 ccm entnommen, desgleichen nach weiteren 48 Stunden und jedesmal gleich mit Aceton gefällt. Die Untersuchung ergab:

Versuch A.

	acetonlöslich	unlöslich
20 ccm nach 48 Stunden Dialyse	0,038	2,70 mg Jod.
20 „ „ 2 mal 48 Stunden Dialyse	0,114	2,52 „ „

Nach längerem Dialysieren hatte sich das acetonlösliche Jod sogar vermehrt.

Bei einem anderen Versuch wurde ein Saft verwendet mit 6,42 mg Jod im Koagulum und 0,076 mg Jod im Filtrat von 20 ccm. Diese und die folgenden Analysenwerte sind Mittelwerte übereinstimmender Doppelbestimmungen. Um zu prüfen, ob die oben gemachte Erfahrung, daß sich die Menge des Filtratjods steigerte, bestätigt würde, gingen wir so vor, daß je 50 ccm Saft nebeneinander, die eine Portion im Dialysierschlauch, die andere in einem Kölbchen mit Toluol versetzt ohne Dialyse 2 Tage in fließendem Wasser verweilten. Dann wurde gemessen und entsprechende Mengen untersucht.

Versuch B.

Koagulum	Filtrat
6,53 mg Jod	0,045 mg Jod in dem dialysierten Saft.
6,52 „ „	0,143 „ „ „ nichtdialysierten Saft.

In beiden Versuchen (A und B) zeigt sich nach den ersten 48 Stunden Dialyse eine Abnahme des Filtratjods gegenüber dem Ausgangssaft. Da wir das Vorhandensein von Jodidjod in solchen Säften kennen, ist es wahrscheinlich, daß das heraus diffundierte Jod dieser Kategorie angehört hat.

In Versuch A bewirkte eine fortgesetzte Dialyse nun nicht nur keine weitere Abnahme des Filtratjods, sondern sogar eine Zunahme. Dieser Befund wird bestätigt durch die beträchtliche Vermehrung des Filtratjods im Versuch B, als nicht dialysiert wurde. Die nächstliegende Erklärung dürfte die sein, daß durch autolytische oder bakterielle Vorgänge, die das

Toluol nicht verhindert hat, ein kleiner Teil des Jodeiweißkörpers unter Bildung von jodführenden im Aceton löslichen Komplexen gespalten wurde. Da die Vermehrung auch im Dialysierschlauch stattfand, ist der Abbau offenbar noch nicht bis zu einer diffundierenden Abbaustufe gelangt. Vielleicht handelt es sich aber auch um locker gebundenes Jodidjod.

Wie leicht z. B. Jodwasserstoff von einer Eiweißlösung bei der Dialyse festgehalten werden kann, zeigte uns ein Versuch bei dem zu 100 ccm einer Serumglobulinlösung 5 ccm einer Jodalkali enthaltenden, mit Salzsäure versetzten Lösung zugesetzt wurden. Die Menge des Jods, das als HJ vorhanden war, betrug 3,97 mg. Die Reaktion war nach Zusatz der sauren Lösung noch nicht kongosauer. Im Dialysierschlauch wurde 20 Stunden gegen destilliertes Wasser dialysiert und nur 0,1 mg Jod (Fresenius) im Außenwasser erhalten. Ein zweites Dialysat (7 Stunden später) ergab noch Spuren Jod. Vergleicht man dies Ergebnis mit unseren Dialysierversuchen mit zugesetztem Jodalkali, wo in 10 Stunden etwa 3 Viertel des Jods im Außenwasser erschienen waren, so zeigt sich aufs deutlichste der starke Einfluß, den schon eine so lockere Bindung, wie es die Acidalbuminbindung ist, auf die Dialyse ausübt.

Durch die Dialyse kann also das umgesetzte echte organische Jod und das locker gebundene nicht unterschieden werden.

Wenn man sich nun noch klar macht, daß auch sehr wohl jodhaltige Eiweißspaltlinge in einer Lösung vorliegen können, die durch die Dialysiermembran hindurchgehen, so wird man zu der Folgerung gedrängt, daß das Dialysierverfahren zur Entscheidung der Frage, ob organisches oder anorganisches Jod vorliegt, wenig geeignet ist.

c) Die Trennung durch Verflüchtigen des Jods.

Winterstein und Herzfeld¹⁾ haben eine Methode angegeben, bei der die Bestimmung des Jods darauf beruht,

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. 63, S. 49 (1909).

daß es möglich ist, aus einer phosphorsauren jodidhaltigen Lösung nach Zusatz von H_2O_2 , das freigewordene Jod mit einem Luftstrom vollständig in eine mit Jodkalilösung beschickte Vorlage überzutreiben, wo es dann titrimetisch bestimmt werden kann. Voraussetzung der Methode ist, wie von den Autoren betont wird, die Abwesenheit von Substanzen, die in der sauren Lösung mit dem freiwerdenden Jod eine Verbindung eingehen können. Die Autoren haben z. B. bei Urin nachgewiesen, daß die direkte Bestimmung viel zu wenig Jod liefert, während die nach dem Veraschen des Urins ausgeführte Analyse richtige Werte ergab. Der Grund dafür ist die Anwesenheit jodbindender organischer Substanzen im Urin, die erst durch die Veraschung zerstört werden. Es ist dies eine Erscheinung, die jedermann auffällt, wenn er kleine Jodalkalimengen, die einem Urin zugesetzt sind, direkt durch Ausschütteln der mit Schwefelsäure und Nitrit versetzten Lösung nachweisen will.¹⁾ Es treten bemerkenswerte Jodverluste auf. Das wird für die Bestimmung nach Fresenius, — Titration des ausgeschüttelten Jods — in der genannten Arbeit ebenfalls konstatiert.

In einer Arbeit aus dem Jahre 1912 beschäftigen sich nun Herzfeld und Makler²⁾ mit der Frage, ob Jod im Organismus abgespalten werden muß, um sich mit einem organischen Rest zu vereinigen. Sie verneinen diese Frage im Gegensatz zu der von Ehrlich³⁾ ausgesprochenen Anschauung und halten durch dort mitgeteilte Versuche die direkte Umsetzung von Jodkali bzw. Jodionen zu organisch gebundenem Jod (Jodeiweiß) für nachgewiesen und zwar ist es der Speichel, dem sie diese Fähigkeit zuschreiben. Die Versuchsanordnung war folgende: 10 ccm Speichel (alkalisch) kamen mit 1 ccm $n/10$ -KJ-Lösung versetzt in den Brutschrank (2 Stunden). Dann wurde in der einen Hälfte nach Winterstein und Herzfeld

¹⁾ Hierauf weist z. B. auch Boruttau hin, Zeitschr. exp. Path. u. Therap., Bd. 8 [1911], S. 427. Eine der ersten diesbezüglichen Angaben dürfte die von Blum sein. Münch. Med. Wochenschr. [1898], Nr. 8/9.

²⁾ Med. Klinik 1912, Bd. 8, Nr. 35, S. 1428.

³⁾ P. Ehrlich. Nobelvortrag. Stockholm.

durch Verflüchtigen, in der anderen nach Fresenius durch Ausschütteln und Titrieren das Jod bestimmt. Beide Male wurden ca. 17% nicht zurückerhalten. Diese waren in den betreffenden Rückständen verblieben, aus denen sie erst nach dem Veraschen erhalten wurden. Bei Betrachtung der Versuchsanordnung muß aber sofort auffallen, daß gegen die oben genannte Grundbedingung der Verwendbarkeit der Methode verstoßen wurde, denn in einer organische Substanz reichlich enthaltenden Lösung wurde einmal mit Superoxyd, das andere Mal mit salpetriger Säure Jod freigemacht. Dabei mußte ein Teil des Jods in statu nascendi natürlich in feste organische Bindung eintreten und ließ sich dann weder übertreiben noch ausschütteln, sondern konnte erst im veraschenen Rückstand nachgewiesen werden. Die nachgewiesene Bildung von organisch gebundenem Jod erfolgte also aus dem von den Autoren freigemachten Jod beim Zusammentreffen mit der organischen Substanz, je nach dem Jodbindungsvermögen der letzteren und der Einwirkungsdauer in verschiedenem Maße.

Wir haben der prinzipiellen Wichtigkeit der Frage wegen geprüft, erstens ob die Fähigkeit freies Jod und nicht Jodkali zu Jodeiweiß oder ähnlichen Substanzen zu binden, dem Speichel überhaupt zukommt und ob allgemein diese Bindung in eiweißhaltigen Lösungen sich schon bei kurzem Stehen mit freiem Jod zusammen konstatieren läßt, und zweitens, ob die Entstehung organischen Jods beim Behandeln von Speichel mit Jodkali bei Bruttemperatur mit einem einwandfreien Verfahren bestätigt werden konnte.

Daß freies Jod in Medien, die organische Substanzen enthalten, unter verschiedenen Bedingungen, die z. T. den von Herzfeld und Makler angewendeten ähnlich sind, gebunden wird, zeigten uns einige Versuche:

20 ccm Serumglobulinlösung mit Jodkalilösung (= 4,73 mg Jod) versetzt, kamen nach Zusatz von 15 ccm H_2O_2 und 5 ccm Phosphorsäure (Ph. G. V) und einer Spur Chloroform 2 Stunden in den Brutschrank. Mit Soda wurde neutralisiert und mit 160 ccm Aceton ausgefällt. Es enthielten nun das Filtrat 1,52 mg Jod.

Die 4 Acetonextrakte 0,15—0,10—0,06—0 mg Jod, das Koagulum 2,86 mg Jod: zusammen wiedergefunden 4,69 mg Jod. Angewendet 4,73 mg Jod. Es hatte sich demnach mehr als die Hälfte des Jods in der Zeit der Einwirkung mit dem Eiweiß umgesetzt.

Ein zweiter Versuch zeigte, daß von 15 ccm Eiereiweißlösung (1 : 1) unter ähnlichen Bedingungen (1 ccm KJ-Lsg. = 4,73 mg Jod, 5 ccm H_3PO_4 , 20 ccm H_2O_2), während 20 Minuten immerhin schon 0,28 mg Jod organisch gebunden wurden. Der Rest fand sich im Filtrat.

Ein dritter Versuch sollte den Einfluß der Wasserbadtemperatur zeigen und ähnelt am meisten den Arbeitsbedingungen von Herzfeld und Makler. 10 ccm Speichel mit der gleichen Menge Wasser und mit 1 ccm KJ-Lösung (1 = 4,73 mg J.) versetzt, erhielten einen Zusatz von 20 ccm H_2O_2 und 5 ccm Phosphorsäure (1 : 4). Die Lösung färbt sich sofort gelb und wird 6 Minuten aufs siedende Wasserbad gesetzt. Es entweichen Joddämpfe und die Lösung nimmt eine hellere Farbe an. Sofort nach dem Abkühlen wird mit Aceton gefällt und in den einzelnen Fraktionen das Jod bestimmt. Es enthielt das Filtrat 2,4 mg, das Extrakt 0, das Koagulum 1,06: zusammen 3,46 mg statt 4,73 mg Jod. Die fehlenden 1,27 mg Jod waren beim Erhitzen entwichen. Die 1,06 mg im Koagulum haben sich während des kurzdauernden Erhitzens in dem eiweißhaltigen Medium fest verankert. Eine Einwirkung von KJ auf den Speichel im Brutschrank im Sinne der genannten Autoren hatte aber nicht stattgefunden; denn ohne H_2O_2 war jene Jodbindung nicht aufgetreten.

Daß der Speichel die behauptete eigentümliche Fähigkeit habe, Jod aus Jodid freizumachen und anzulagern, war nach diesen Befunden unwahrscheinlich, schien aber doch einer speziellen Nachprüfung wert, da der prinzipielle Fehler in den genannten Untersuchungen erkannt und seine Vermeidung leicht möglich war.

Schon ein Vorversuch ergab, daß bei 3 stündigem Verweilen von frischem Speichel mit KJ-Lösung im Brutschrank das erhaltene Acetonkoagulum jodfrei war. Nunmehr wurden

16 ccm Speichel mit 1 ccm KJ-Lösung 5 Stunden bebrütet und dann die Acetonfällung und Aufarbeitung durchgeführt wie üblich. Auf Grund der Erfahrung, daß die Niederschläge sehr schwer quantitativ extrahierbar sind, wurden noch mehrfach Acetonextrakte geprüft, bis der letzte jodfrei war.

Es enthielten: Filtrat 4,66 mg Jod.
 Extrakte 0,07—0,03—0 mg Jod.
 Koagulum 0 mg Jod.
 4,76 mg Jod statt 4,73 mg Jod.

Das Ergebnis ist: Der Speichel hat das zugesetzte Jodalkali unverändert gelassen, wie dies früher schon bei Blut öfters konstatiert worden war.

In derselben Weise verlief auch ein Versuch mit Serumglobulinlösung, der als Parallelversuch zu dem oben beschriebenen durchgeführt wurde. 20 ccm Serumglobulinlösung mit 1 ccm KJ-Lsg. (= 4,73 mg J.) und 20 ccm H₂O versetzt kamen 2 Stunden in den Brutschrank. Die Aufarbeitung nach dem Acetonextraktionsverfahren ergab

im Filtrat	4,55	mg J.
in den Extrakten	0,23—0,05—0	» »
im Koagulum	0	» »

Es resultiert aus allen diesen Versuchen, daß der Speichel ebensowenig wie das Blut von sich aus eine spezifische Jodumsetzung betätigt. Freigemachtem Jod gegenüber verhält er sich als Jodfänger wie auch zahlreiche andere Substanzen z. B. Blut, Urin, Gewebssäfte und Eiweißlösungen.

Zusammenfassend seien zum Schluß die Bedingungen wiederholt, die zur Trennung von Jodalkali und Jodeiweiß erfüllt werden müssen.

1. Jede Extraktion von Salzen aus Eiweißkörpern erfolgt quantitativ nur solange die Substanz feinst verteilt und für das Extraktionsmittel ganz durchdringlich ist. Diese Eigenschaft geht aber beim Trocknen verloren.

2. Die Dialyse erweist sich zur Trennung ungeeignet, weil sie zu lange Zeit in Anspruch nimmt und für eine völlige Entfernung der letzten Spuren Jod ein Kriterium fehlt. Bei vor-

liegender Adsorption und Doppelbindung, die natürlich nicht unter den Begriff der Umsetzung und organischen Bindung fällt, ermöglicht sie die erforderliche Trennung nicht.

3. Während aller zum Zweck der Trennung vorgenommenen Manipulationen muß unbedingt vermieden werden, daß in irgend einem Moment elementares Jod Gelegenheit bekommt, mit organischer Substanz eine Umsetzung einzugehen.

B. Existiert ein normaler Jodgehalt in anderen Organen als in der Schilddrüse?

Aus den Betrachtungen und Versuchen des ersten Abschnitts geht hervor, daß die Diagnose einer Jodumsetzung nicht leicht einwandfrei zu stellen ist. Um nicht fehlzugehen, wird man sich alle Möglichkeiten von Irrtümern bei der Beurteilung der in der Literatur vorliegenden Angaben vor Augen halten müssen.

Die meisten Versuche, Jod in Organen nachzuweisen, sind, soweit die Organe ohne vorherige Trennungsversuche im ganzen verbrannt wurden, nur als vorläufig orientierende anzusehen und positive Jodbefunde dürfen nur zur Konstatierung einer Speicherung dienen. Eine Eingliederung in den Zellbestand eines Organs, so wie sie bei der Schilddrüse durch Bildung des typischen Jodeiweißkörpers mittels chemischer Umsetzung stattfindet, ist für ein anderes Organ noch nicht erwiesen worden. Wie ein Jodgehalt der Haare und Klauen nach Jodzufuhr aufzufassen ist, darüber haben wir uns oben geäußert. Wenn auch in diesem Falle, wie aus den Angaben von Howald hervorgeht, eine organische Bindung des Jods eingetreten ist, so bedeutet das noch nicht den Nachweis einer charakteristischen Lebenstätigkeit; vielmehr erscheint die Umsetzung in diesen Gebilden, denen die Möglichkeit fehlt, das einmal aufgenommene Jod wieder abzugeben, unter dem Einfluß von Licht und Luft das Wahrscheinlichste.

Die Angaben von Justus, der die Auffassung vom physiologischen Jodgehalt der Zelle vertritt, sind nach dem Nachweis der Unzulänglichkeit seiner Methodik nicht länger zu halten.

a) Findet sich organisch gebundenes Jod in den Lymphdrüsen des Stromgebiets der Thyreoidea?

Der Weg, den ein Sekret der Schilddrüse nehmen könnte, braucht nicht direkt ins Blut zu gehen, sondern könnte auch über die Lymphbahnen führen. Gewisse mikroskopische Beobachtungen¹⁾ an Schnitten durch die Schilddrüse schienen für einen Übergang von Schilddrüsenkolloid in die Lymphwege zu sprechen. Wenn die Anschauung, daß der Jodeiweißkörper der Schilddrüse das sezernierte, wirksame Agens sei und auf diesem Wege in den Organismus gelange, zutreffend sein soll, so müßte sich in den zugehörigen Lymphdrüsen, den ersten Stationen auf dem Wege ins Blut, dieser Jodeiweißkörper, kenntlich an dem Jodanteil, auffinden lassen.

Dieser Überlegung zufolge hat der eine von uns (Blum)²⁾ schon früher die entnommene Lymphe in Mengen bis über 100 ccm untersucht und jodfrei befunden. Auch gesammelte Lymphdrüsen der Schilddrüsengegend erwiesen sich als frei von Jod. Der gegen diese Versuche erhobene Einwand,³⁾ die Menge der Lymphe sei eben zu gering gewesen, erscheint nicht stichhaltig, wenn man sich klar macht, daß der Lymphstrom weder nach der Gesamtmenge Lymphe, die er befördert, noch nach seiner Strömungsgeschwindigkeit mit dem Blutstrom zu vergleichen ist. Eine Menge von 100 ccm Lymphe ist also eine sehr beträchtliche, die wohl Schlüsse erlauben mußte, selbst wenn man sie nur als Anteil der Gesamtymphe und nicht hauptsächlich der Thyreoidallymphe ansieht.

Die beachtenswerte Arbeit von Carlson und Woelfel hat zudem neuerlich wieder den Beweis erbracht, daß die Lymphe absolut jodfrei ist und auch die vielfach als empfindlichste Probe auf Schilddrüsensubstanz angesehene Reid Huntsche Acetonitrilreaktion nicht gibt.

Wir haben unser Material bei der Wichtigkeit der Frage ebenfalls zur Klärung der Verhältnisse ausnutzen wollen und

¹⁾ Hürthle, Pflügers Archiv, Bd. 56 [1894], S. 1.

²⁾ Blum, Virchows Archiv [1899], Bd. 158, S. 509.

³⁾ Biedl, Innere Sekretion, Wien [1913].

haben große Mengen von Lymphdrüsen des Stromgebietes der Thyreoidea, die von geeigneten Tieren erhalten waren, in Aceton gesammelt. Nach dem Zerkleinern wurde in üblicher Weise Acetonfiltrat, Extrakt und Koagulum untersucht. Das Ergebnis bestätigte die oben genannten Versuche von Blum.

Die Lymphdrüsen der Schilddrüsengegend wurden bei 2 Pferden möglichst vollständig herauspräpariert und nach oberflächlichem Abspülen mit Wasser in 80% Aceton eingeschnitten. Es wurde dreimal mit Aceton ausgekocht, heiß filtriert und Filtrat wie Rückstand auf Jod geprüft. Filtrat = 0, Rückstand = 0.

Die entsprechenden Lymphdrüsen von 5 Hunden, ausgekocht mit Aceton, wurden verascht. Rückstand Jod = 0.

Die Lymphdrüsen von 2 Hunden in toto verascht ergaben Jod = 0.

Eine große Menge Lymphdrüsen von Hunden, in Aceton aufbewahrt, wurde angesammelt und die Rückstände auf Jod untersucht. Jodgehalt = 0.

b) Untersuchung von Organen normaler Tiere.

Zunächst beschränkten wir uns auf Organe wie Leber, Niere, Milz, Herz und Lunge. Die sogenannten Blutdrüsen haben wir bisher noch nicht untersucht. Wir möchten nur daran erinnern, daß bei normalen Individuen die Hypophysen von Wells,¹⁾ die Ovarien von Zoeppritz²⁾ als jodfrei befunden wurden.

Unsere Versuche zeigten, daß organisches Jod in den untersuchten Organen nicht vorhanden war. Anorganisches Jod in kleinsten Mengen, das ins Acetonfiltrat übergang, fand sich gelegentlich. Würde die Trennung nicht vorgenommen, so fände sich dieses Jod nach Veraschung des ganzen Organs und führte leicht zu falschen Schlüssen. Danach sind jene Angaben in der Litteratur zu beurteilen, nach denen ein Jodgehalt tierischer Organe dazu benutzt wurde, die Sekretion

¹⁾ G. Wells, Journ. biol. Chem., Bd. 7, S. 259.

²⁾ Zoeppritz, Münch. Med. Wochenschr., Bd. 59 [1912], S. 1898.

eines Jodeiweißkörpers der Thyreoidea wahrscheinlich zu machen. Unsere Kritik richtet sich also nicht allein gegen die Methodik des Jodnachweises, die ein Vorhandensein des Halogens vortäuschte, sondern auch gegen die ganze Beweisführung als solche. Der Jodgehalt der Organe außer der Schilddrüse ist nach unserer Auffassung kein gesetz- und regelmäßiger, sondern ein zufälliger und nicht spezifischer. Erst der Nachweis organischen, an Eiweiß gebundenen Jods würde Schlüsse auf die Beziehungen des betreffenden Organs zur Schilddrüse oder Vergleiche der Funktionen beider gestatten. In unseren Analysen von Organen normaler Tiere fand sich kein Anhalt für das Vorhandensein an Eiweiß gebundenen Jods, wie es im Gegensatz dazu der Schilddrüse zukommt.

Im Folgenden seien die Resultate zusammengefaßt.

Hund 166 normal. Kost: beliebig.

Untersuchung der Organe: Leber Filtrat Spur Koag. 0

Lunge — 0 — 0

Niere — 0 — 0

Herz — 0 — 0

Hund 225 normal. Früher KJ-Gaben; dann lange J-frei ernährt.

Leber Filtrat 0 Koag. 0

Niere — 0 — 0

Milz — 0 — 0

Hund 214 normal. Früher KJ-Gaben; dann lange J-frei ernährt.

Leber Filtrat 0 Koag. 0

Niere — 0 — 0

Herz — 0 — 0

Milz — 0 — 0

Hund K. Wegen Krankheit getötet. Fütterung mit Hundekuchen.

Leber Filtrat Spur Extrakt 0 K 0

Niere — 0 — — 0

Milz — 0 — — 0

Herz — 0 — — 0

Hammel. Leber Filtrat 0,02 E 0 Koag. 0

Milz — 0 — 0

Niere — Spur — Spur

Hammel. Niere. 2) 0 >

3) 0 >

4) 0 >

5) 0 >

6) 0 EE Sp. EE 0 Kg. 0

7) 0 EE 0 Kg. Spur

EE = Extraktion mit Essigsäure und Natriumsulfat in der Hitze.

Außerdem ergaben einige Versuche mit Preßsäften und zerhackten Organen, die für andere Zwecke benötigt wurden, das Freisein von Jod.

Die in der Tabelle erwähnten Befunde an Hammelnieren sind sehr auffallend gegenüber den durchaus negativen Jodbefunden an anderen Organen des Hammels und an den Nieren aller anderen Tiere. Eine Erklärung kann noch nicht gegeben werden. Die Möglichkeit liegt immerhin vor, daß durchpassierendes Jodalkali in der Niere Jodwasserstoff bildet, der dann entweder als solcher oder nach partieller Oxydation mit dem Eiweiß in Verbindung tritt. Eine Regelmäßigkeit besteht aber offenbar nicht. Wenn eine Jodwasserstoffdoppelverbindung mit Eiweiß vorliegt, wird allerdings die Acetontrennung allein nicht genügen. Das ist auch der Grund, weshalb wir in zweifelhaften Fällen noch eine Extraktion mit Essigsäure-Natriumsulfat in der Hitze vor der Veraschung des Koagulums einschalteten.

c) Findet sich organisch gebundenes Jod nach Jodalkalieingabe auch außerhalb der Schilddrüse?

Organisch gebundenes Jod könnte sich in einem Organ finden, wenn es von der Schilddrüse aus als Jodeiweißkörper sezerniert in dem betreffenden Organ gerade abgefaßt würde. Das entspricht dem Befund von organischem Jod in verschiedenen Teilen des Organismus nach Einspritzung von SchilddrüSENSaft. Es könnte aber auch durch einen gleichen Vorgang wie in der Schilddrüse in einem anderen Organ aus anorganischem Jod gebildet worden sein.

Beide Annahmen finden sich meist ungenügend auseinandergehalten in der Literatur vor. Die erste Annahme ist durch die Untersuchungen des Blutes¹⁾ und der normalen Organe (s. oben) widerlegt. Die zweite Möglichkeit ist zwar schon durch die obigen Versuche unwahrscheinlich gemacht, möge aber noch einer besonderen Prüfung unterzogen werden.

¹⁾ Unsere Mitteilung, I. c.

Gegenüber dem eben ausgesprochenen Satz, daß normale Tiere in den verschiedensten Organen kein organisches Jod enthalten, könnte der Einwand gemacht werden, daß die dem Organismus zur Verfügung stehende Jodmenge überhaupt zu klein gewesen sei und daß das organisch gebundene Jod der betreffenden Organe sich deshalb dem Nachweis entzogen habe. Die Stichhaltigkeit dieses Einwands mußte geprüft werden: Wenn wirklich andere Organe imstande sind, Jod in Form von Jodeiweiß in sich aufzuspeichern, wie das die Schilddrüse tut, wenn also der Unterschied von der Schilddrüse nur ein quantitativer, kein qualitativer wäre, so müßte es möglich sein, bei Tieren, die große Quantitäten Jod als Jodalkali längere Zeit zugeführt erhielten, eine Anreicherung der Jodeiweißsubstanz in den Organen zu erzielen, die den Betrag des organisch gebundenen Jods in den Bereich der Meßbarkeit rückte. Es mußte also die Fähigkeit der Schilddrüse, Jod in organischer Form zu binden und zu speichern, auch bei anderen Organen, wenn auch abgeschwächt, wiedergefunden werden; es müßte also organisches Jod nach Zuführung von Jodalkali während einiger Zeit bei Untersuchung der Organe gefunden werden. Natürlich darf kein Schilddrüsen- oder anderes Jodeiweiß gereicht werden, da dieses in den Organen unverändert sich ablagern könnte. Zur Prüfung der Analogie mit der Schilddrüse mußte deshalb Jodkali gegeben werden. Natürlich hat man bei der Bearbeitung des Materials hier mit besonders großer Sorgfalt die Trennung durchzuführen, da das Blut in diesem Fall stets anorganisches Jod enthält.

Die definitive Entscheidung der Frage kann erst durch mehrere Versuche und durch Untersuchung nahezu aller Organe gebracht werden. Der folgende Versuch gehört hierher:

Hund 320 bekam nach Exstirpation der linken Schilddrüse täglich 0,1 g NaJ per os während 10 Tagen. Das Tier ging am dritten Tag nach Exstirpation der zweiten Schilddrüse ein. Die Organe wurden zerkleinert, in Aceton eingelegt und erst mit Aceton extrahiert. Es folgte hierauf mit Rücksicht auf die oben genannten Beobachtungen eine Extraktion mit Essigsäure-Natriumsulfatlösung in der Hitze. Erst wenn diese kein Jod

mehr ergab, wurde das Koagulum verascht. Das Resultat zeigt die folgende Tabelle:

Organe	Acetonfiltrat	Aceton- extrakt	Essigsäure- extrakt	Koagulum
Leber	0,23	0,08/0,05	0,040	0
Nieren	0,06	0	0	0
Hoden	0,02	0	0	0
Milz	0,05	Spur	0	0

Zu diesen Befunden stimmt die Angabe von L. Adler und L. Czapski¹⁾ in einer jüngst erschienenen Arbeit, die bei Kaninchen nach KJ-Injektionen in Hoden, Leber und Muskeln sowie im Blut kein organisches Jod nachweisen konnten, sondern alles Jod in Jodidform fanden.

Auch die Untersuchungen an den Organen der oben erwähnten Tiere 214 und 225 die einige Zeit Jodalkali erhalten hatten und dann J-frei ernährt worden waren, zeigen, daß kein organisch gebundenes Jod irgendwo entstanden war. Während es dort schon wieder hätte eliminiert sein können, ist das bei Hund 320 sehr unwahrscheinlich, da der ganze Organismus noch sehr jodreich war. Die bisherigen Versuche haben also keinen Anhaltspunkt für die Annahme ergeben, daß in anderen Organen als der Schilddrüse Jodeiweiß gebildet werden könnte.

Zusammenfassung.

1. Jodumsetzung und Jodspeicherung sind scharf auseinanderzuhaltende Begriffe.
2. Zur Beurteilung, ob eine Jodumsetzung oder eine Jodspeicherung vorliegt, bedarf es besonderer Trennungverfahren.
3. Die Schilddrüse setzt Jod um und speichert es.
4. Eine regelmäßige Jodspeicherung oder eine solche auf lange Zeitläufe findet nirgends sonst im Organismus der höheren Tiere statt.

¹⁾ Biochem. Zeitschrift [1914], Bd. 65, S. 117.

5. Die zum Stromgebiet der Thyreoidea gehörigen Lymphdrüsen waren stets frei von Jod.

6. Andere untersuchten Organe normaler Tiere enthielten in einigen Fällen, aber unregelmäßig anorganisches, offenbar aus der Nahrung stammendes Jod, aber kein organisch gebundenes Jod.

7. Nach Zufuhr von Jodalkali ließ sich Bildung von Jodeiweiß außerhalb der Thyreoidea nicht nachweisen. Hier aber entsteht das Jodeiweiß durch eine spezifische Organtätigkeit.
