

Über die Ausscheidung von artfremdem Eiweiß bei gesunder und geschädigter Niere.

Von

Andreas Korányi und Arthur Hámori.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. September 1935.)

Seitdem die auffallende Veränderung der Zusammensetzung des Bluteiweißes, welche bei schweren Albuminurien eintritt, bekannt geworden ist, ist es verständlich, daß *Munk* solche Zustände als allgemeine Stoffwechselstörungen des Organismus auffaßt und annimmt, daß der pathologische Zustand des Nierenepithels die Folge einer bestimmten konstitutionellen Veränderung der Blutbeschaffenheit sei und vielleicht nicht nur die Nierenzellen, sondern auch das Eiweiß der übrigen Körperzellen verändert ist. Als bewiesen betrachtet er diesen Satz bei der Lipoidnephrose, wo es sich um einen Symptomenkomplex handelt, welcher offensichtlich auf einer Störung im Aufbau der Körperkolloide, und zwar in einer Verschiebung von den *Solen* zu den *Gelen*, von den hydrophilen Eiweißkörpern zu den hydrophoben beruht. Auch *Fahr* führt die Lipoidnephrose auf eine allgemeine Erkrankung zurück, bei welcher die Veränderung des Nierenepithels an Bedeutung neben der Störung des Lipidstoffwechsels zurücktritt. *Schlayer* betont die Wichtigkeit der allgemeinen toxischen Gefäßschädigungen, *Stolte* und *Knauer* sprechen auch von einer allgemeinen Erkrankung. Nach *Aschoff* besteht eine infektiös-toxische Schädigung des Gesamtorganismus, welche vielleicht infolge physiko-chemischer Zustandsänderungen des Blutplasmas eine Durchlässigkeit der Glomeruluscapillaren für Lipoide und Eiweißkörper bedingt. *Epstein* und *Löwenthal* denken an eine primäre Stoffwechselstörung und sprechen von Diabetes albuminuricus bzw. lipoidproteinicus, wobei die Nierenveränderungen an Bedeutung ganz zurücktreten.

Auf Grund dieser Tatsache, daß die ausgeschiedenen Eiweißkörper bei Nephrose größtenteils Albumine sind, obwohl das Bluteiweiß überwiegend Globuline enthält, führt *Epstein* die Entstehung der Albuminurie auf eine chemisch nicht faßbare, biologische Veränderung des Blutalbumins zurück, wodurch dasselbe als artfremdes Eiweiß von der Niere ausgeschieden wird. Demnach ist die Veränderung der Bluteiweißkörper vom Standpunkte der Nieren von derselben Bedeutung, als ob es zu einer Bildung von artfremden Eiweißkörpern käme, die infolgedessen ausgeschieden werden.

Nach der im Wesen übereinstimmenden Meinung der erwähnten Autoren steht also die Albuminurie nicht im Mittelpunkt des nephrotischen Symptomenkomplexes und ist nur als eine sekundäre Erscheinung zu betrachten. *Volhard* wirft jedoch den Gedanken auf, ob bei Nephrose nicht auch die Nierenschädigung die Folge der Albuminurie, diese der Ausdruck einer primären Stoffwechselstörung, einer Allgemeinkrankheit sein könnte? Es ist also fraglich, ob nicht die Albuminurie, als Ausdruck einer allgemeinen Stoffwechselstörung in dem Symptomenkomplex der Nephrose die *primäre* Erscheinung ist. Nach diesen Überlegungen *Volhards* ist somit eine weitere Klärung der Frage in erster Reihe von Untersuchungen zu erwarten, welche die Gesetze der Entstehung der Albuminurie unter verschiedenen Bedingungen behandeln.

Rusznayák und *Neméth* haben schon vor Jahren bewiesen, daß der Grund der Albuminurie bei Nierenkrankheiten nicht in einer pathologischen Veränderung der Plasmaeiweißkörper zu suchen ist, wie es von *Epstein* und *Mitarbeiter* vorausgesetzt wurde, sondern in der veränderten Durchlässigkeit des Nierenfilters; die genannten Autoren schlugen hiermit in der Forschung der Albuminuriefrage einen ganz neuen Weg ein. Für die Richtigkeit dieser Auffassung sprechen auch unsere anderen Ortes bereits veröffentlichten Untersuchungen, in welchen wir gesunde und geschädigte Nieren mit Serumeiweiß nephrotischer und gesunder Individuen durchströmen ließen und fanden, daß das gesunde Serum-eiweiß von den geschädigten Nieren durchgelassen wird, während die gesunden Nieren sich für denselben Eiweißkörper als undurchlässlich erwiesen. Die erwähnten Experimente beweisen einwandfrei, daß in dem Zustandekommen der Albuminurie die Veränderung des Nierenfilters als ausschlaggebender Faktor zu betrachten ist.

Zur weiteren Klarlegung dieser Frage unternahmen wir auf die Anregung von Prof. *Alexander von Korányi* unsere vorliegenden Untersuchungen, welche die Ausscheidung von parenteral verabreichten artfremden Eiweißkörpern bei normalen und pathologisch veränderten Nieren zu untersuchen berufen sind.

In unseren Untersuchungen gingen wir von der Ultrafiltrationstheorie der Nierenfunktion aus, nach welcher die gesunde Glomerulusmembran für jeden Eiweißkörper undurchlässlich ist. *Bayliss* und *Mitarbeiter* konnten jedoch in der letzten Zeit beweisen, daß jeder Eiweißkörper, dessen Molekulargewicht unter 70 000 ist — z. B. Gelatine, Hühner-eiweiß, *Bence-Jones* Eiweißkörper —, mit dem Harn ausgeschieden wird; dementsgegen werden Proteine von einem Molekulargewicht über 70 000, so z. B. die Serumeiweißkörper, Edestin, Casein und Hämo-cyanin von den Nieren zurückgehalten. Die Menge des ausgeschiedenen Eiweißes wurde mittels Stickstoffbestimmung berechnet. Nach *Bayliss* und *Mitarbeiter* liegt also der Grund der verschiedenen Ausscheidung der einzelnen Eiweißkörper in deren ungleichem Molekulargewicht und nicht

etwa in irgendeiner geheimnisvollen auswählenden Funktion des Nierenepithels. Es erscheint jedoch auch der Standpunkt derjenigen Forscher berechtigt, die sich mit einer leichteren Filtrierbarkeit des Hühner-eiweißes als Erklärung der Albuminurie nicht begnügen, da neben den artfremden Eiweißkörpern gleichzeitig und gesetzmäßig stets auch eigenes Eiweiß im Harn des Tieres zur Ausscheidung gelangt. Deshalb denkt *Volhard* auf eine Schädigung bzw. Reizzustand des Nierenepithels bei der Ausscheidung der artfremden Eiweißkörper. Diese Auffassung *Volhards* findet in den Untersuchungsergebnissen von *Garriere* und *Schulmann* eine Unterstützung, die nach intravenöser Zufuhr von Hühner-eiweiß eine Albuminurie beobachteten, jedoch quantitativ feststellen konnten, daß die Menge des ausgeschiedenen Eiweißes wesentlich unter derjenigen des eingeführten blieb; folglich ist von keiner Ausscheidung des injizierten Eiweißes, sondern von einer, infolge der toxischen Schädigung des Nierenepithels auftretenden Albuminurie zu sprechen. Die Versuche von *Asai* mit intravenöser Injektion von artfremdem Eiweißkörper zeigen, daß neben der heterogenen auch eine homogene Eiweißausscheidung stattfindet.

Zur Entscheidung der Frage begnügten wir uns also nicht wie *Bayliss* und *Mitarbeiter* mit dem chemischen Nachweis der nach parenteraler Eiweißzufuhr im Harn erscheinenden Proteine, sondern identifizierten das ausgeschiedene Eiweiß spezifisch durch Ringpräzipitation. Dieses biologische Verfahren erwies sich geeignet zur Entscheidung der Frage, ob es sich um eine toxische Albuminurie handelt oder ob auch das eingeführte artfremde Eiweiß zu Ausscheidung gelangt; andererseits konnte hierdurch die Ausscheidung des eingeführten Eiweißes nicht nur unter normalen Verhältnissen, sondern auch bei durch Kaliumbichromat geschädigten Nieren, also bei infolge der Nierenschädigung bestehenden Albuminurie nachgewiesen werden.

In unseren Versuchen untersuchten wir die Ausscheidung von zwei verschiedenen, den Versuchstieren artfremden Eiweißkörpern, und zwar von Hühner-eiweiß und von Menschenserum.

Versuchsordnung: Wir nahmen zu jedem Versuch zwei ungefähr gleich schwere Kaninchen, von welchen das eine 2 Tage vorher mit pro Kilogramm 0,7 cem 2%iger Kaliumbichromatlösung vergiftet wurde, während das andere zur Kontrolle diente. Die eingetretene Schädigung der Nieren stellten wir durch Urinuntersuchungen fest. Nach Entleerung der Blase führten wir den Tieren durch eine Magensonde 50 cem Wasser zu. Diese Wasserzufuhr mußte deshalb vorgenommen werden, weil die hohe Konzentration des Harns auch bei gesunden Tieren die einwandfreie Ausführung der Ringpräzipitationsreaktion nicht zuläßt; bei den vergifteten Tieren diente diese Wasserzufuhr bei der bestehenden starken Oligurie auch zur Erleichterung der Harnentnahme. Sodann bekamen die Tiere 10 cem einer 40%igen Eiweißlösung (in physiologischer Kochsalzlösung) intravenös eingespritzt. Schließlich wurde die Blase durch Druck in den auf Tabelle 1 und 2 verzeichneten Zeitabständen entleert. Der auf diese Weise gewonnene Harn wurde über das Präcipitationsserum geschichtet. (Zu bemerken ist, daß der von anorgani-

sehen Substanzen trübe Harn vorher zentrifugiert werden muß, damit der feine graue Präcipitationsring genau beobachtet werden kann.) Als negative Kontrolle verwendeten wir den vor der Eiweißinjektion entleerten Harn; um eine positive Kontrolle zu besitzen verfertigten wir von dem zu prüfenden Eiweiß eine 1 : 1000 verdünnte Lösung, mit deren Präcipitationsring die Intensität der Reaktion des zu untersuchenden Harns verglichen wurde. Die Ablesung der Resultate geschah 15 Min. nach der Einstellung der Reaktion, am besten bei dem Lichte einer Mikroskoplampe; auf diese Weise ist die Breite und die Intensität (Dichte) der Präcipitationsringe am leichtesten zu beurteilen. Die Reaktion der positiven Kontrolllösung wurde mit +++ bezeichnet. Da die Breite des Präcipitationsringes mit der Konzentration der Lösung nicht parallel wechselt, stellten wir in späteren Untersuchungen die Quantität des ausgeschiedenen Eiweißes titrimetrisch fest. Die erhaltenen Harnportionen wurden in einer geometrischen Reihe (1, 2, 4, 8 usw.) verdünnt und die Konzentration des Eiweißes mit derjenigen größten Verdünnung bezeichnet, welche noch eine positive Ringpräcipitation ergab. In unseren titrimetrisch kontrollierten Experimenten gaben wir den Tieren statt der 40%igen, 10 cem einer 30%igen Eiweißlösung: Die 40%ige Menschenserumlösung verursachte nämlich eine schwere, oft tödliche Hämolyse. Das Hühnereiweiß wurde durch Gaze filtriert. Der Titer unserer Präcipitations-Sera betrug 1 : 10000 bzw. 1 : 20000.

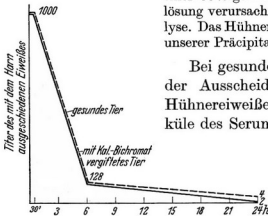


Abb. 1.

Bei gesunden Nieren ist der Unterschied zwischen der Ausscheidung des Menschenserums und des Hühnereiweißes sehr augenfällig. Die großen Moleküle des Serums passieren die ungeschädigte Nierenmembran zumeist höchstens in den ersten Stunden, doch ist in solchen Fällen stets eine starke Hämolyse wahrzunehmen, so daß auf toxische Wirkungen geschlossen werden muß. Bei Kaliumbichromatver-

giftung konnten wir hingegen das artfremde Serumeiweiß lange Zeit hindurch im Harn nachweisen.

Das kleinere Molekül des Hühnereiweißes wird bei ähnlicher Versuchsanordnung von der gesunden Niere ebenso ausgeschieden, wie von der geschädigten; hiervon konnten wir uns besonders durch unsere titrimetrischen Untersuchungen überzeugen (Abb. 1). Obwohl es nicht ausgeschlossen ist, daß während der Filtration des artfremden Eiweißes auch eigene Eiweißkörper des Tieres im Harn erscheinen, können wir einer toxischen Albuminurie in diesem Sinne keine Bedeutung beimessen. Bei jedem unserer Experimente mit Hühnereiweiß bekamen wir nämlich wenigstens noch einen halben Tag hindurch eine positive Präcipitation, obwohl mit Sulfosalicylsäure bereits keine Opaleszenz mehr zu beobachten war. Auf eine ähnliche Schlußfolgerung kam auch *Hayasi*, der die Beobachtung machte, daß mit dem Hühnereiweiß gleichzeitig auch eigenes Plasma-eiweiß die Glomeruli des Frosches passiert, jedoch mit demselben gleichzeitig aus dem Harn trotz wiederholter Eiweißinjektionen auch verschwindet. Wir konnten also mit *Bayliss* und *Mitarbeiter* übereinstimmend

feststellen, daß die Filtrationstheorie der Glomerulusfunktion einer Ergänzung bedarf; die Glomerulusmembran ist nicht nur für Krystalloide, sondern auch für Eiweißstoffe, deren Molekulargewicht 70 000 nicht erreicht, durchlässig.

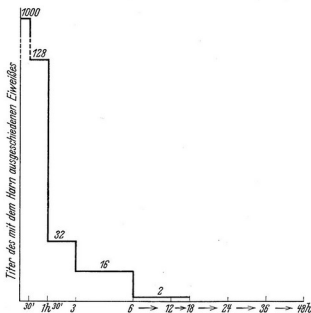


Abb. 2.

Bei Chromnephritis ließ sich zwischen der Ausscheidung des Hühner-eiweißes und des Serumeiweißes nur durch Titration ein Unterschied nachweisen. Das Hühner-eiweiß konnten wir in den ersten 3 Stunden in großer Menge vorfinden, doch verringerte sich seine Quantität bald

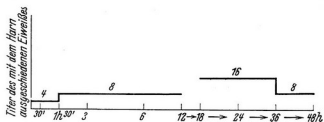


Abb. 3.

und die Ausscheidung hörte in jedem Experiment rascher auf als die des Serumeiweißes. Das Menschen Serum wird hingegen selbst von dem geschädigten Nierenfilter in viel geringerem Maße, jedoch verzögert durchgelassen. Seine Menge erhöhte sich nur im späteren Verlauf des Versuches, was wir jedoch mit der stets zunehmenden Nierenschädigung erklären können. Bei Kaliumbichromatvergiftung erfolgt also die Ausscheidung des Hühner-eiweißes und des Serumeiweißes nach verschiedenen Typen (Abb. 2 u. 3). Die Ursache dieser Erscheinung sehen wir darin, daß Eiweißstoffe von großem Molekulargewicht auch bei tubularer Läsion

Nr.	Gewicht g	Geschlecht	Präzipitationstiter des Harnes										
			Stunden										
			1/2	1 1/2	3	6	12	18	24	30	36	48	
1	2480	♀	H.E. ¹	1000	128	32	16	2	2	Ø	—	—	—
2	2250	♀	M.S. ²	4	4	8	8	8	—	16	—	16	8
3	3000	♀	H.E.	500	1000	128	4	1/8	Verdünnung negativ		—	—	—
			M.S.	2	4	4	4	8	8	1/8	Verdünnung negativ		—
4	2850	♂	H.E.	64	32	8	8	8	—	8	—	2	—
			M.S.	1	1	1	1	1	—	4	—	4	2
5	2750	♀	H.E.	128	250	64	16	16	—	16	16	—	—
			M.S.	8	16	8	8	16	—	32	16	—	—

¹ H.E. Hühnereiweiß. ² M.S. Menschenserum.

schwerer zu filtrieren sind, als solche mit kleinerem Molekulargewicht. Bei der Nephrose kommt es somit zu einer Zunahme des Serumglobulins auch dadurch, daß der Organismus die kleineren Moleküle des Albumins durch die Albuminurie leichter verliert. Wir können also die Voraussetzung *Epsteins*, daß das Albumin eine chemisch nicht nachweisbare, biologische Veränderung erleidet, infolgedessen es als artfremdes Eiweiß von der Niere ausgeschieden wird, nicht als richtig anerkennen. Nach unserer Überlegung ist die pathologische Veränderung der Serumeiweißkörper nur eine Folge davon, daß die Niere selbst bei tubulärer Läsion die Eiweißkörper von großem Molekulargewicht nur schwer durchläßt; der Grund der Albuminurie ist also in erster Linie in dem erkrankten Nierenfilter zu suchen, wie es auch von *Rusznayák* und *Németh* seinerzeit vorausgesetzt wurde. Bezüglich der Zunahme der Globulinfraction schließen wir uns der Meinung von *Erben* und *Elwyn* an, die einen kompensatorischen regulativen Mechanismus hierin erblicken und annehmen, daß der Organismus seinen Eiweißverlust durch Bildung von Eiweißkörpern großen Molekulargewichtes zu verhindern trachtet.

Die Ergebnisse unserer Versuche sind aus der Tabelle ersichtlich.

Das 1. Tier bekam nur Hühnereiweiß, das 2. nur Menschenserum; die letzten drei Versuchstiere dagegen erhielten beide Eiweißarten. Letztere Versuchsanordnung sollte die Frage beantworten, auf welche Weise die artfremden und verschieden großen Eiweißmoleküle das im gleichen Maße geschädigte Nierenfilter passieren?

Der Titer unserer Präzipitationssera und der Titer der im Harn ausgeschiedenen Eiweißkörper ist zu verschiedenen Zeitpunkten verzeichnet. Der Titer unseres Hühnereiweiß präzipitierenden Serums war in einem Teil unserer Experimente höher als derjenige des Menschenserum präzipitierenden Serums. Die Herstellung eines hochwertigen Menschenserum präzipitierenden Kaninchen-serums stößt bekanntlich auf große Schwierigkeiten. Obwohl der Endtiter in erster Linie von der

Titer des Serum	Permeabilitätsquotient	In den ersten 6 Stunden ausgeschiedene Harnmenge	Hämo-lyse	Bemerkungen
1 : 20 000	0,05	20	Ø	Exitus nach 50 Std. Konzentrierter Harn. Die Reaktion ist nur in einer Verdünnung von 1 : 8 ausführbar
1 : 10 000	0,0016	39	Ø	
1 : 12 000	0,083			
		46	+	
1 : 8 000	0,001			
1 : 8 000	0,008	163	++	Polyurie M.S. ist nach 70 Std. positiv
1 : 8 000	0,0005			
1 : 8 000	0,031	23	++	Exitus nach 30 Std.
1 : 8 000	0,004			

Stärke des Präcipitationsserums abhängig ist, können unsere Ergebnisse doch verwertet werden, zumal die aus der Tabelle ersichtlichen Unterschiede so groß sind, daß sie auf diese Weise nicht erklärlich wären. So z. B. war in unserem ersten Experiment der Titer des Menschenserum präzipitierenden Serums doppelt so hoch, wie derjenige des Eiweiß präzipitierenden Serums; das Hühnereiweiß war hingegen in der ersten halben Stunde in 1 : 1000 Verdünnung des Menscheneiweißes nur in vierfacher Verdünnung nachzuweisen. Um jedoch diese Fehlerquelle möglichst zu vermeiden, verglichen wir den Titer des Präcipitationsserums mit dem höchsten Titer des ausgeschiedenen Eiweißes in Form eines Bruches, in dessen Zähler der Titer des ausgeschiedenen Eiweißes, im Nenner derjenige des Präcipitationsserums steht. Die erhaltene Zahl bezeichnen wir mit dem Namen „Permeabilitätsquotient“. So beträgt z. B. der Permeabilitätsquotient des Hühnereiweißes bei Kaninchen Nr. 1 $1000/20\ 000 = 0,05$, derjenige des Menschenserums bei Kaninchen Nr. 2 $16/10\ 000 = 0,0016$. Auf diese Weise erhielten wir also eine von der Stärke des Präcipitationsserums unabhängige Zahl.

Wenn wir die Mengen des ausgeschiedenen artfremden Eiweißes betrachten, ist es auffallend, daß bei Kaninchen Nr. 4 die Werte sowohl des Menschenserums, als des Hühnereiweißes sehr gering sind, wobei beim Tiere eine starke Polyurie besteht. Aus diesem Experiment geht hervor, daß die Ausscheidung des fremden Eiweißes in gewissem Maße auch von der Stärke der Diurese abhängig ist. Aus diesem Grunde verzeichneten wir bei jedem Versuche die Menge des in den ersten 6 Stunden entleerten Harns. Im Laufe unserer Versuche trat bei denjenigen Tieren, welche mit Fremdeiweißkörpern behandelt wurden, eine Hämolyse von verschiedenem Grade auf. Die Hämolyse wurde den Intensitätsgraden entsprechend durch Kreuze ausgedrückt.

Zusammenfassung.

In Übereinstimmung mit *Bayliss* und *Mitarbeiter* fanden wir mit dem Präcipitationsverfahren, daß die gesunde Niere von den parenteral

verabreichten Eiweißstoffen das Hühnereiweiß ausscheidet, das Serum-eiweiß hingegen nicht. Der Unterschied wurzelt nicht in biologischen Eigenschaften der Eiweißstoffe, sondern in dem verschiedenen Molekulargewicht derselben.

Bei Chromnephritis wird sowohl das Hühnereiweiß wie auch das Serumeiweiß ausgeschieden, doch lassen sich im Verlaufe der Ausscheidung bedeutende Unterschiede wahrnehmen. Das Hühnereiweiß passiert in den ersten 3 Stunden den geschädigten Nierenfilter in sehr großen Mengen, nimmt jedoch in seiner Konzentration bald stark ab und verschwindet stets früher aus dem Harn als das menschliche Serumeiweiß. Die großen Moleküle des Menschenserums passieren selbst die kranke Niere in geringerer Konzentration, werden aber in kleinen Mengen, gleichmäßig und verzögert ausgeschieden. Die verschiedenen Eiweißkörper werden also ihrem Molekulargewicht entsprechend nicht nur von dem gesunden, sondern auch von dem geschädigten Nierenfilter verschieden durchgelassen. Diese Erscheinung muß in der Pathogenese des nephrotischen Symptomenkomplexes von Bedeutung sein.

Schrifttum.

- Asai*: Monogr. Acta Dermat. Ser. Urol. 1928 Nr 1. — *Aschoff*: Dtsch. med. Wschr. 1927 II. — Med. Klin. 1927 II. — *Bayliss, L. E., Phyllis M. Tookey Kerridge and D. S. Russel*: J. of Physiol. 77, Nr 4, 386 (1933). — *Épstein, A. A.*: Amer. J. med. Sci. 154 (1917). — Med. J. N. Amer. 4 (1920). — J. amer. med. Assoc. 69 (1922). — *Fahr*: Verh. dtsch. path. Ges. 17. Tagg 1914. — Zbl. Path. 1918, Nr. 21. — Dtsch. Arch. klin. Med. 125, 66 (1918). — Berl. klin. Wschr. 1918 II. — Virchows Arch. 239, 40 (1922). — *Garriere u. Schulmann*: C. r. Soc. Biol. Paris 93, 600 (1925). — *Hayasi*: Proc. imp. Acad. Tokyo 3 (1927). — *Korányi, Alexander von*: Nierenkrankheiten. Berlin: Julius Springer 1929. — *Korányi, Andreas u. A. Hámori*: Z. exper. Med. 96, H. 4 (1935). — *Löwenthal*: Virchows Arch. 261 (1926). — *Munk*: Med. Klin. 1916 II. — Virchows Arch. 22, 82 (1919). — Dtsch. Arch. klin. Med. 140, 137 (1922). — *Rusznýk és Németh*: Z. exper. Med. 70, 464 (1930). — *Schlayer*: Med. Klin. 1918 I. — *Stolte, K. u. H. Knauer*: Jb. Kinderheilk. 115 (1926). — *Volhard*: Nieren und ableitende Harnwege: *Bergmann-Staehelin*. Berlin: Julius Springer 1931.