

Beitrag zur Farbenlehre der Galle.

Von

John Berry Haycraft, M. D., D. Sc., und Harold Scofield, M. B.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität zu Edinburg.)

(Der Redaction zugegangen am 3. August 1889.)

Einer der wichtigsten Gallenfarbstoffe ist das Bilirubin. Es hat eine orange-rothe Farbe und entsteht durch die Zersetzung von Hämoglobin. Bilirubin kann oxydirt werden, wodurch der Reihe nach grüner, blauer, rother und schliesslich gelbbrauner Farbstoff entsteht. Zwischen dem blauen und dem rothen entsteht auch noch violetter Farbstoff, doch ist es zweifelhaft, ob dieser nur eine Mischung der beiden anderen ist oder nicht. Nach Städeler (Gorup-Besanez, *Physiol. Chemie*, S. 207) wird der grüne Farbstoff durch Oxydation und Zusatz von einem Moleküle Wasser gebildet. Diese Farbstoffe besitzen nicht immer dieselben Eigenschaften. So führt MacMunn an, dass das in der Galle des Oehsen anwesende grüne Pigment sich von dem auf künstliche Weise durch Oxydation des Bilirubins, sagen wir von menschlicher Galle, hergestellten dadurch unterscheidet, dass es sich in Chloroform auflöst (*Journal of Phys.*, vol. 6, p. 2). Nun kann aber dieses Pigment der Ochsengalle durch Oxydation in das Blaue, dieses weiter in das Rothe und so fort verwandelt werden, so dass es zu der Bilirubin-Serie, wie wir es nennen wollen, gehört. Durch seine Farbe wird uns seine Stellung in der Stufe der oxydirten Producte angegeben. Wir werden

mit dem Ausdrücke «Biliverdin» ein grünes Pigment, welches höher als das Bilirubin oxydirt ist, und mit dem Ausdrücke «Bilicyanin» das noch höher oxydirte blaue Pigment bezeichnen. Für das violette und für das rothe Pigment werden wir beziehungsweise einfach die Benennung «Violettes Pigment» und «Rothes Pigment» gebrauchen. Die Bezeichnung «Choletelin» wird uns schliesslich für das höchste Product der Oxydation wie für das gelblich braune Pigment dienen.

Ogleich es nun leicht ist, durch die Wirkung eines Oxydationsmittels wie Salpetersäure von einem der niedrigen Glieder der Bilirubin-Serie zu einem höheren zu gelangen, so ist es doch häufig betont worden, dass bis jetzt noch kein Versuch, die höheren Glieder auf die niedrigen zu reduciren, gelungen sei. — Lauder Brunton führt an (*Handbook for the Physiol. Labor.*, p. 498), dass flüchtige Schwefelsäure, die ein sehr stark entsäuerndes Reagens ist, eine alkalische Lösung von Biliverdin gelb färbt; wenn die gelbe Lösung dann mit Salpetersäure behandelt wird, so verhält sich dieselbe genau so wie eine Lösung Bilirubin.

Wir haben nun beobachtet, dass wenn man Ochsen-galle in ein hohes Gefäss thut und dieselbe für einige Stunden darin stehen lässt, dass dann eine Farbenveränderung derselben vor sich geht. Haben wir blaues Pigment, so verwandelt sich die Farbe desselben in grün und diese schliesslich in orange-braun. Wir haben hier nun, ohne noch weiter zu gehen, unbedingt ein Beispiel von der Reduction dieser Farbstoffe, was aus dem Umstande hervorgeht, dass wenn wir zu diesem so erhaltenen braunen Pigmente einige Tröpfchen Salpetersäure hinzusetzen, so wird dasselbe durch den Oxydationsprocess wieder in Bilirubin verwandelt, und wenn wir dann allmählig mehr Säure hinzusetzen, so entsteht der Reihe nach blaues, violettes, rothes und gelbes Pigment. Hydrobilirubin erhalten wir aber nicht auf dem Wege dieser Reduction, da dieses nicht in der von uns beschriebenen Weise reoxydirt werden kann.

Beim Oeffnen einer Gallenblase frisch vom Schlachthause wird man selten oder nie verfehlen, Zeichen von Reduction

in derselben wahrzunehmen. Die Blasenöhle ist mit blauer oder blaugrüner Galle angefüllt, dagegen ist die dicke Galle nächst der Schleimhaut von orange-brauner und die Schleimhaut selbst von brauner Farbe. Es ist daher nicht unwahrscheinlich, dass während der Lebzeit eine Reduction des Biliverdins stattfindet, welche vielleicht der Wirkung der Schleimhaut, oder des von derselben abgesonderten Schleimes zuzuschreiben ist. Dies ist in der That beinahe sicher der Fall und kann man sich das Factum wohl in's Gedächtniss zurückrufen, dass das Pigment, in den Gallensteinen des Ochsen enthalten, nicht aus Biliverdin, sondern aus Bilirubin bestand.

Es war unbedingt eine Sache von Bedeutung, den soeben beschriebenen Reductionsprocessen nachzuforschen, um wenn möglich die Ursache davon und den Einfluss modificirender Umstände auf dieselben in Erfahrung zu bringen. Hierbei wurden wir von Dr. MacMunn ausserordentlich unterstützt. Wir sandten diesem Herrn wiederholt Lösungen, bei denen es uns schwierig wurde zu ermitteln, ob in denselben Absorptionsstreifen vorhanden waren, und wir müssen ihm unseren Dank aussprechen für die Freundlichkeit, mit der er jederzeit bereit war, uns zu helfen.

Experiment I.

Temperatur des Laboratoriums 60° Fahrenheit. Zwei Reagir-cylinder wurden mit frischer grüner Ochsegalle gefüllt und von Tag zu Tag beobachtet. Nach drei Tagen hatte die Galle, in dem unteren Theile eines der Cylinder, eine braungrüne Farbe angenommen. Nunmehr verbreitete sich der Farbenwechsel nach oben und nach Verlauf weiterer zwölf Stunden war der ganze Cylinder mit Galle von einer gleichmässigen braunen Farbe angefüllt. Fäulniss, die sich durch unangenehmen Geruch zu erkennen gab, war zu dieser Zeit bereits eingetreten. Die Galle in dem anderen Cylinder zeigte weder Farbenveränderung, noch Putrefaction bis zum folgenden Tage, wenn beides zugleich eintrat. Später nahm die Galle allmählig eine helle Bernsteinfarbe an, zeigte das Farbenspiel indess während fast vier Monaten, nach welcher Zeit Gmelin's Probe fehlschlug. Die Lösung wurde alsdann mit dem Spectroskope untersucht. Das violette Ende des Farbenbildes war ein wenig beschattet und Streifen von Cholohämatin, doch kein deutlicher

Streifen von Hydrobilirubin waren vorhanden. Hieraus geht hervor, dass Bilirubin reducirt wird, wenn es der Atmosphäre ausgesetzt ist; ferner dass das Bilirubin verschwindet, ohne Hydrobilirubin zu bilden.

Experiment II.

Reagircylinder wurden mit Ochsen-galle gefüllt und Stücke Schleimhaut der Gallenblase hinzugefügt. Die beobachteten Veränderungen waren dieselben wie die in Experiment I beschriebenen. Die Schleimhaut schien die Reduction der Galle in ihrer Nähe zu beschleunigen. Die Reduction des Farbstoffes schien sonderbar mit dem Eintritte der Putrefaction zusammenzutreffen. Die folgenden Experimente wurden unternommen, um die durch Putrefaction verursachten Veränderungen zu entfernen.

Experiment III.

Ochsen-galle wurde in Reagircylinder, welche zuvor mit Wolle verstopft waren, gekocht. Eine Farbenveränderung wurde durch das Kochen nicht hervorgebracht, noch entstand eine solche während der folgenden sieben Tage, dann aber nahm die Galle eine hellbraune Farbe an, welche schnell erblasste, bis die Galle nach vierzehn Tagen fast farblos war. Nach drei Monaten misslang Gmelin's Probe, wonach die Lösung nach weiteren zwei Wochen mit dem Spectroskope untersucht wurde. Es fand sich, dass Cholo-hämatinstreifen abwesend waren, doch dürfte eine Spur von Hydrobilirubin möglicherweise vorhanden gewesen sein. Dieses Experiment deutet an, dass Reduction des Biliverdin eintritt und dass das Bilirubin in Galle, in welcher Putrefaction verhindert ist, verschwindet. Ferner scheint die Reduction durch Fäulniss beschleunigt zu werden.

Experiment IV.

Ochsen-galle wurde evaporirt bis zum Trockenwerden in einer Temperatur von 50° Centigrade. Die Farbe wechselte sehr langsam. Gmelin's Probe misslang erst nach atmosphärischer Aussetzung von mehreren Monaten.

Experiment V.

Einige vollständig luftfreie und sterilisirte dünne Glasröhren wurden zu einer sehr feinen Spitze ausgezogen und diese durch die Wand einer frischen Gallenblase hindurchgestossen, sodann wurden die Spitzen eben ausserhalb der Blase gefasst und abgebrochen, worauf sie sich sofort mit Galle füllten, und nachdem nunnmehr aus der Blase herausgezogen, wurden die Enden mittelst Löthröhre versiegelt. Keine Farbenveränderung zeigte sich während vierzehn Tagen. Das Wetter war kalt und finster. Nun aber nahmen sie

eine braune Farbe an; indess keine weiteren Veränderungen eintreten, zeigten sie mit Salpetersäure nach einem Jahre ein deutliches Farbenspiel.

Veränderungen, in ihrer Natur nicht sehr verschieden, erfolgen, wenn Blut von einer Arterie direct in ein sterilisirtes Glasrohr aufgefangen wird, indem das Oxyhämoglobin reducirt wird, aber Jahre lang, ohne weitere Veränderungen zu erleiden, bleibt.

In den mit Galle gefüllten sterilisirten Glasröhren schien die Veränderung der Farbe durch den dicken Schleim der Blase beeinflusst zu sein, denn diejenigen, welche den meisten Schleim enthielten, wurden ausnahmslos früher braun, als diejenigen, welche weniger Schleim enthielten. Es ist jedoch aus den Resultaten der zwei folgenden Experimente zu ersehen, dass Reduction auch sehr leicht in Abwesenheit von Schleim vor sich geht. Leider wurden diese zwei Experimente, das erste während kalten und finsternen, das zweite während warmen und hellen Wetters vorgenommen, so dass man einen scharfen Vergleich nicht anstellen, wohl aber von den allgemein erhaltenen Resultaten den Schluss ziehen kann, dass dicker Blasenschleim die Reduction herbeizuführen hilft, obgleich die Anwesenheit von Schleim nicht bedingt ist.

Experiment VII.

Um Gewissheit zu erlangen, ob Reduction in Galle absolut frei von Schleim, eintreten würde, wurde letztere durch Alkohol niedergeschlagen. Nachdem der Schleim abgesondert war, wurde das Filtrat über ein Wasserbad eingedämpft, bis der Alkohol ausgetrieben war. Die Reduction geschah in zwei Tagen. Das Wetter war heiss und hell.

Die letzten Experimente wurden in heissem Mittesommer-Wetter unternommen und es wurde beobachtet, dass während die Reduction in allen Fällen sehr schnell vor sich ging, war dies besonders in den Glasröhren, welche dem Lichte zumeist ausgesetzt waren, der Fall. In den folgenden Experimenten wurde die Wirkung des Lichtes genauer erforscht.

Experiment VIII.

- a) Galle, welche in Reagircylindern dem Lichte ausgesetzt wurde, war in vierundzwanzig Stunden reducirt und nach einer Woche verfehlte Gmelin's Probe. Das Wetter war heiss und hell. Andere Theile derselben Galle wurden in drei Tagen in einer dunklen Metallkammer reducirt.
- b) Galle, welche in verstopften Reagircylindern gekocht und dem Lichte ausgesetzt war, wurde in achtundzwanzig Stunden reducirt. Ein Theil derselben Galle, in ähnlicher Weise behandelt, aber in die

dunkle Kammer gestellt, behielt für siebenzehn Tage eine Spur der ursprünglichen grünen Farbe bei.

- c) Galle in luftfreien und sterilisirten Reagircylindern wurde bei Licht in zwanzig Stunden reducirt. In der dunklen Kammer begann die Veränderung langsam am Boden des Cylinders nach vierundzwanzig Stunden.
- d) Ein Häutchen Galle, ungefähr 1 Millimeter dick, wurde bei niedriger Temperatur getrocknet. Am vierten Tage hatte es seine Farbe gänzlich in braun verändert, während ein anderes Häutchen, ähnlich präparirt, aber in die dunkle Kammer gelegt, die ursprüngliche blaugrüne Farbe der Galle bis zur endgültigen Untersuchung nach einem und einem halben Jahre noch beibehalten hatte.

Es würde hiernach erscheinen, dass Biliverdin seinen Sauerstoff ebenso leicht abgibt wie Oxyhämoglobin. Es wird in den sterilisirten Cylindern zu Bilirubin aber nicht weiter reducirt. Diese Reduction wird durch Licht, Putrefaction und dicken Schleim beschleunigt, aber wird verhindert, wenn man die Galle trocknet und in eine dunkle Metallkammer legt. Wenn Galle putreficirt, oder nicht putreficirende Galle durch Kochen verändert ist, verschwindet das Bilirubin schliesslich, und Gmelin's Probe liefert kein Farbenspiel. Der Ueberrest enthält einen braunen Farbstoff, welcher keine Absorptionsstreifen zeigt und sich von Hydrobilirubin durch seine Löslichkeit unterscheidet; er ist unlöslich in Aether, aber leicht löslich in Alkohol.

Die Farbe menschlicher Galle.

Sehr bald nach Mittheilung des Obigen an die Royal Society of Edinburgh erschien ein sehr interessanter Artikel der Herren Copeman und Winston in dem Journal of Physiol., May 1889, in welchem dieselben die Resultate ihrer Beobachtungen in Fällen von Gallen-Fistel im Menschen beschreiben. Unter Anderem bemerkten sie, dass die aus der Wunde fliessende Galle eine olivengrüne Farbe hatte. Sie führten einige Fälle an, welche in Merchiston's Diseases of the Liver beschrieben sind und aus denen hervorgeht, dass Merchiston darauf aufmerksam machte, dass menschliche Galle grün ist. Diese Beobachtungen Merchiston's, deren

Genauigkeit man kaum bezweifeln kann, scheinen der Aufmerksamkeit der Physiologen gänzlich entgangen zu sein, und es ist daher nöthig, das gegenseitige Verhalten der Gallenfarbstoffe zu einander gänzlich von Neuem in Erwägung zu ziehen.

Sehr natürlich kommen Copeman und Winston zu dem Schluss, dass die Reduction des Biliverdin zu Bilirubin durch Putrefaction verursacht ist, und zur Unterstützung dieser Ansicht finden sie bei der Untersuchung der Galle eines Affen, eben nach dessen Tode, dass dieselbe von dunkelgrüner Farbe ist, während die Galle eines anderen Affen, einige Stunden nach dessen Tode, braun befunden wird. In derselben Weise glauben sie nun, dass menschliche Galle, einige Tage nach dem Tode untersucht, schon Veränderungen von Farbe untergangen hat, was gleichfalls der eingetretenen Fäulniss zuzuschreiben sei. — Ohne die Wichtigkeit der Putrefaction als ein die Reduction beschleunigendes Mittel zu verkennen — denn unsere eigenen Beobachtungen haben uns ja auch zu dieser Ansicht gebracht —, müssen wir doch hervorheben, dass die Galle dieselben Veränderungen erleidet, wenn sie in sterilisirte Cylinder aufgenommen. Die Galle wird auf dieselbe Weise reducirt wie eine Lösung von Oxyhämoglobin, dies geht in der Gallenblase langsam vor sich, und wenn Farbstoff für längere Zeit anwesend ist, wie bei pigmentirten Gallensteinen, so besteht dasselbe immer aus Bilirubin, sowohl im Menschen als im Ochsen.

Die Reduction und Oxygenirung von Pigmenten der Bilirubin-Serie.

Kommt Bilirubin mit der Atmosphäre in Berührung, so verwandelt es sich unter normalen Verhältnissen nicht in Biliverdin, doch geschieht dies, wenn die Lösung zuvor durch Hinzusetzung von Aetznatronlösung stark alkalisch wird. Wir finden, dass sowohl nascensirender Sauerstoff, als auch Ozon diese Veränderung in Galle von normaler Reaction hervorbringen können. Um dieses Experiment auszuführen, muss

man Löschpapier, welches in Galle eingetaucht ist, dem Dampfstrahle von Ozon aussetzen; ozonisirter Aether, welcher Sauerstoff freisetzt, kann diese Papiere ebenfalls oxydiren. Wenn menschliche Galle in einen Glasbecher gefüllt und ein electricischer Strom, aus fünf oder sechs Grove'schen Zellen bestehend, hindurchgeleitet wird — die Electrode müssen aus Platin bestehen —, dann verändert der von dem positiven Pole abgegebene Sauerstoff in einem Zeitraume von drei bis vier Minuten die in seiner Nähe befindliche Galle erst in eine grüne, dann in eine blaugrüne Farbe. Das Experiment mag vielleicht in einer mehr zufriedenstellenden Weise ausgeführt werden, indem man ein Stückchen Löschpapier in die Galle taucht und es dann direct auf die Electrode legt. Die braune Farbe verwandelt sich sodann in der Nähe des positiven Poles der Reihe nach in grün, blau und schliesslich in violett. Die violette Färbung ist indess nicht so deutlich wie die blaue oder grüne, da das Pigment in dieser Oxydationsstufe gebleicht wird.

Die niedrigeren Oxydationsproducte des Bilirubin können in folgender Weise künstlich reducirt werden: Man nimmt mit Salpetersäure gesäuerte Galle, so dass das darin enthaltene Bilirubin zu Biliverdin oder Bilicyanin oxydirt wird, dann werden Stücke Löschpapier in diese Lösung getaucht und diese können alsdann durch den Dampfstrahl von Ammoniumsulfhydrat reducirt werden; die blaue Farbe verwandelt sich in grün, dann braun und kann schliesslich mit Salpetersäure wieder oxydirt werden. Wird Löschpapier in Galle getaucht und durch den positiven Pol der Batterie oxydirt, so kann man das so erhaltene Pigment durch Reversion der Pole wieder reduciren. Das Braun kann oxydirt werden zu Grün und Blau und dann wieder zu Grün und Braun reducirt werden. Lässt man den Oxydationsprocess über die Bilicyaninstufe hinausgehen, so dass man das rothe Pigment erhält, dann kann letzteres durch eine reducirende Substanz direct zu Gelb-Braun reducirt werden, ohne die Mittelfarben zu passiren; durch oxydirende Mittel wird die ursprüngliche rothe Farbe wieder hergestellt.

Die Ausführung dieser Experimente ist viel leichter mit Galle als mit reinem Bilirubin zu bewerkstelligen. In Aetznatron gelöstes Bilirubin ist schwer sowohl zu oxydiren, als auch zu reduciren. Reines Bilirubin, welches pulverisirt auf Löschpapier aufgetragen und mit gewöhnlicher Salzlösung befeuchtet ist, kann ohne jede Schwierigkeit mittelst eines Stromes von drei bis vier Grove'schen Zellen oxydirt und reducirt werden.