

Ueber die Stickstoffausscheidung nach Leberexstirpation.

Von

Dr. S. Lang, Karlsbad.

Ausgeführt mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Litteratur in Böhmen.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge Nr. 44.)

(Der Redaction zugegangen am 9. März 1901.)

I.

Die grosse Bedeutung der Leber für den Stickstoffhaushalt des thierischen Organismus steht im auffallenden Gegensatze zu den spärlichen sicheren Kenntnissen, die wir über die Zwischenprodukte bei gestörter oder ausgeschalteter Leberfunction besitzen. Diese Lücke erklärt sich zum Theile aus den grossen Schwierigkeiten der Leberausschaltung, die beim Säugethier fast unüberwindlich sind, zum Theile aus dem Mangel einer geeigneten Methodik, die einen Einblick in die quantitative Zusammensetzung der stickstoffhaltigen Bestandtheile des Harnes gewährte.

Nachdem von Pfaundler¹⁾ eine brauchbare Methode zur Bestimmung der Stickstoffvertheilung im Harn ausgearbeitet worden war, schien es wünschenswerth, die Verhältnisse der Stickstoffausscheidung im Harn der Vögel, bei denen eine einwandfreie völlige Leberausschaltung möglich ist, zu untersuchen.

Die wichtigen und für die Lehre von der Harnsäurebildung im Vogelorganismus grundlegenden Versuche Minkowski's²⁾ hatten bereits dargethan, dass bei entlebten Gänsen eine auffallende Verschiebung der stickstoffhaltigen Bestandtheile des Harnes eintritt. Die bei normalen Gänsen 60—70% des Gesamtstickstoffs betragende Harnsäureausscheidung ver-

1) Pfaundler, Ueber ein Verfahren zur Bestimmung des Amidosäurenstickstoffs im Harn. Diese Zeitschr., Bd. XXX, S. 75.

2) Minkowski, Ueber den Einfluss der Leberexstirpation auf den Stoffwechsel. Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmak., Bd. XXI.

schwindet zum grössten Theile, dagegen werden 50—60% des Gesamtstickstoffs als Ammoniak ausgeschieden. Die daneben in Form von Harnsäure ausgeschiedene Stickstoffmenge beträgt nur 3—6% des Gesamtstickstoffs und entstammt, wie die Versuche von v. Mach¹⁾ zeigten, der durch die Leberausschaltung nicht behinderten Oxydation von Purinkörpern. Es liess sich erwarten, mit Hilfe der erwähnten Methode etwa neben der Ammoniakausscheidung stattfindende Veränderungen in der Stickstoffvertheilung, die immerhin noch 50—40% des Gesamtstickstoffes betreffen konnten, aufzufinden, sowie über das Verhalten eingeführter stickstoffhaltiger Stoffe im Organismus nach der Leberausschaltung und ihre im Harn erscheinenden Umwandlungsprodukte eine übersichtliche Orientirung zu gewinnen.

II.

Was die Ausführung der Methode betrifft, so schien es zunächst hinreichend, das Pfaundler'sche Verfahren in folgender Vereinfachung durchzuführen.

1. Bestimmung des durch Magnesia austreibbaren Stickstoffs.
2. Bestimmung des Stickstoffs von Phosphorwolframsäure-niederschlag und -Filtrat in der Lösung des nach der Magnesiadestillation verbleibenden Rückstandes.

Es wurde eine abgemessene Menge Harn mit N-freier Magnesia im Ueberschuss versetzt und destillirt. Der Rückstand wurde in Salzsäure (spec. Gew. 1,124) gelöst und mit Phosphorwolframsäure (nach Pfaundler's Vorschrift bereitet) gefällt. Der Niederschlag wurde meist nach 24 stündigem Stehen abfiltrirt, mit verdünnter Phosphorwolframsäure gewaschen und Niederschlag, sowie das mit der Waschlüssigkeit vereinigte Filtrat zur Stickstoffbestimmung verwendet. Ausserdem wurde eine andere Harnportion direkt mit Phosphorwolframsäure gefällt und im Niederschlage sowie im Filtrate (vereinigt mit der Waschlüssigkeit) der Stickstoff bestimmt. Auf diese Weise war innerhalb gewisser Grenzen eine Kontrolle der ersten Bestimmungen möglich, indem der Stickstoff des Phosphorwolframsäureniederschlags der Summe aus dem Ammoniakstickstoff und dem nach der Magnesiadestillation durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoff entsprechen musste, während der Stickstoffgehalt des Filtrates mit dem des Filtrates der ersten Phosphorwolframsäure-

¹⁾ v. Mach, Ueber die Bildung der Harnsäure aus dem Hypoxanthin. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak., Bd. XXIV, S. 389.

fallung übereinstimmen sollte. Die Uebereinstimmung konnte keine absolute sein, da bei der Magnesiadestillation auch ein allerdings geringer Antheil des Stickstoffes aus Harnstoff und vielleicht auch anderen amidartigen Verbindungen in Freiheit gesetzt wird.

Bei der Auställung mit Phosphorwolframsäure wurde darauf geachtet, einen grösseren Ueberschuss zu vermeiden; es wurde in jedem einzelnen Falle durch vorsichtigen allmählichen Zusatz der Säure die nöthige Menge ermittelt, die je nach der Concentration des Harnes schwankte.

Auf diese Weise wurde der ausgeschiedene Stickstoff in drei Gruppen gesondert:

Fraction I. Der durch Magnesia austreibbare Stickstoff, entsprechend dem Stickstoff des Ammoniaks und einem kleinen Bruchtheile aus Harnstoff und eventuell vorhandenen Säureamiden abgespaltenen Stickstoffs.

Fraction II. Der durch Phosphorwolframsäure nach Entfernung der Fraction I fällbare Stickstoff, entsprechend dem Stickstoff der Harnsäure, der Purinkörper, eventuell der Diaminosäuren.

Fraction III. Der durch Phosphorwolframsäure nach Entfernung der Harnsäurebasenfraction nicht fällbare Stickstoff, entsprechend den Amidosäuren, dem grössten Theile des Harnstoffs, dem Kreatin.¹⁾

III.

Nothwendige Voraussetzung für die Beurtheilung der nach Leberausschaltung eintretenden Verhältnisse war die Kenntniss der Stickstoffvertheilung im normalen Gänseharn. Es wurden daher zunächst einige Normalversuche angestellt. Um den Harn ohne Beimischung von Koth zu erhalten, wurde normalen Thieren, die constant in allen Versuchen mit Hafer gefüttert wurden, der Mastdarm oberhalb der Kloake unterbunden, der

1) Der Uebersichtlichkeit halber soll im Folgenden der Stickstoff der Fraction I als Magnesia-Stickstoff, der Stickstoff der Fraction II als Harnsäurebasenstickstoff, der Stickstoff der Fraction III als Monamidosäurenstickstoff bezeichnet werden, ohne durch diese Ausdrücke die Bestandtheile der einzelnen Fractionen im Einzelnen charakterisiren zu wollen.

Harn unter Toluol aufgefangen. Die Entnahme der einzelnen Portionen für die Bestimmungen stiess insofern auf Schwierigkeiten, als der entleerte Harn reichlich Harnsäurekügelchen, in eine schleimige Substanz eingebettet, enthält, die in der Flüssigkeit rasch zu Boden sinken. Eindampfen des Harnes zu einem gleichmässigen Brei konnte Veränderungen der stickstoffhaltigen Substanzen herbeiführen. Es wurde deshalb eine möglichst gleichmässige Vertheilung durch Schütteln zu erzielen versucht. In Versuch III wurde der Harn centrifugirt, die Flüssigkeit über dem Bodensatze abgegossen, das Sediment wiederholt mit destillirtem Wasser gewaschen und wieder centrifugirt. Es wurden dann von der mit den Waschwässern vereinten Harnflüssigkeit, sowie von dem Sedimente gewogene Mengen zu gesonderten Bestimmungen genommen und auf den Gesamtharn umgerechnet. Ich lasse die Resultate in tabellarischer Form folgen:

	Ver- such I	Ver- such II	Ver- such III
Gesamtstickstoff	0.3423 %	0.2746 %	0.3487 %
Magnesiastickstoff	0.0721 %	0.0658 %	0.09901 %
In Procenten des Gesamtstickstoffs	21.07 %	24.0 %	28 %
Harnsäurebasenstickstoff	0.2275 %	0.1643 %	0.1853 %
In Procenten des Gesamtstickstoffs	66.46 %	60.5 %	53.1 %
Monamidosäurenstickstoff	0.0427 %	0.0445 %	0.644 %
In Procenten des Gesamtstickstoffs	12.5 %	15.5 %	18.6 %
P-W-Nied.-N ¹ , direkt im Harn	0.2996 %		0.2843 %
In Procenten des Gesamtstickstoffs	87.5 %		* 81 %
P-W-Filtr.-N, direkt im Harn	*0.0429 %		
In Procenten des Gesamtstickstoffs	13.3 %		

1. P-W-Nied.-N bedeute den Stickstoff des Phosphorwolframsäure-niederschlags:

P-W-Filtr.-N bedeute den des Phosphorwolframsäurefiltrats.

*) Die mit * bezeichneten Zahlen sind durch indirekte Bestimmung gefunden.

Die erhaltenen Zahlen zeigen gute Uebereinstimmung mit den in der Litteratur vorliegenden Angaben über die Zusammensetzung des normalen Vogelharnes (Meissner,¹⁾ v. Knierim,²⁾ Meyer,³⁾ Minkowski⁴⁾. Diesen zufolge erscheinen darin 60—70% des Gesamtstickstoffes in Form von Harnsäure, 9—18% in Form von Ammoniak, 2—6% in Form von Harnstoff. Die etwas höheren Ammoniakwerthe in meinen Versuchen erklären sich vielleicht daraus, dass bei der Magnesiadestillation aus dem Schleimkörper⁵⁾ des normalen Gänseharnes eine geringe Menge Amidstickstoff abgespalten wird. Die Werthe für den Stickstoff der Harnsäurebasenfraction decken sich wohl ganz mit dem Stickstoff der Purinkörper: die Werthe der Monamidosäurefraction bewegen sich in ziemlich engen Grenzen, von 12—18% des Gesamtstickstoffs.

IV.

Nachdem so die Stickstoffvertheilung des normalen Harnes festgestellt war, konnten die Untersuchungen des nach Leberextirpation entleerten Harnes ausgeführt werden. Die Leberextirpation wurde nach Minkowski's Methode ausgeführt, mit der kleinen auch von Kausch⁶⁾ als zweckmässig erkannten Modification, erst das ligament. suspensor., dann die vom Magen her in den linken Leberlappen einmündenden Gefässe und dann erst die Leberpforte zu unterbinden. Vor jeder Operation wurde das Rectum unterbunden, nach beendeter Operation die Kloake ausgespült. Meist wurden die ersten,

1) Meissner, Zeitschrift für rationelle Medicin, 3. Folge, Bd. 31.

2) v. Knierim, Zeitschrift für Biologie, Bd. 13, S. 36, 1877.

3) Meyer und Jaffe, Ber. d. deutschen chem. Gesellsch., Bd. 10.

4) Minkowski, l. c.

5) Diese Vermuthung ist deshalb naheliegend, weil die durch Centrifugiren erhaltenen Sedimente des normalen Gänseharnes, welche nur aus Harnsäure und Schleim bestehen, bei der Magnesiadestillation etwas Stickstoff abspalten. 0.927 g eines solchen Sedimentes lieferten z. B. 0.00518 g Magnesiastickstoff.

6) Kausch, Archiv f. exper. Pathologie und Pharmakologie, Bd. 39, S. 219.

nach der Operation entleerten Harnportionen, die noch etwas harnsäurereicher sind, nicht mit verarbeitet.

Versuch IV.

Operation beendet um 12 Uhr: das Thier lebt noch Abends um 9 Uhr und wird am nächsten Morgen todt gefunden.

	In 100 cem. Harn	In Procenten des Gesammt-N
Gesammtstickstoff	0.2639 ‰	—
Magnesiastickstoff	0.182 ‰	68.9 ‰
Harnsäurebasenstickstoff	0.014 ‰	5.3 ‰
Monamidosäurenstickstoff	*) 0.0679 ‰	25.8 ‰
P-W.-Nied.-N direkt im Harn	0.201 ‰	77.9 ‰
P-W.-Filtr.-N direkt im Harn	*) 0.063 ‰	23.0 ‰
N(NH ₃) nach Schlösing	0.1786 ‰	67.67 ‰

Um ein für alle Mal die Frage zu entscheiden, ob nach der Leberauschaltung eine Veränderung der Harnstoffausscheidung eintritt, welche den Werth der Amidosäurenfraction beeinflussen könnte, wurde in diesem Falle auch eine Harnstoffbestimmung ausgeführt. In 20 cem. Harn wurde das Ammoniak durch Kochen mit Magnesia verjagt, der Rückstand in Salzsäure gelöst und mit Phosphorwolframsäure gefällt, das Filtrat durch 12 Stunden mit Phosphorsäure auf 150° erhitzt, der Rückstand in Wasser aufgenommen und einer Magnesiadestillation unterworfen: es fanden sich 0,00224 g Stickstoff = 0.112 ‰, entsprechend 4,3 ‰ des Gesammt-N. Eine Vermehrung des Harnstoffs war somit nicht eingetreten, ein Resultat, das mit Minkowski's Beobachtungen übereinstimmt.

Versuch V.

Operation beendet um 11½ Uhr. Tod. um 3½ Uhr. Trotzdem dieses Thier nur 4 Stunden gelebt hatte, wurde der Harn doch verarbeitet, um ein Bild der Uebergangsverhältnisse zu erhalten.

	In 100 ccm. Harn	In Procenten des Gesamt-N
Gesamtstickstoff	0,2184 %	—
Magnesiastickstoff	0,0847 %	38,6 %
Harnsäurebasenstickstoff	*) 0,0553 %	25,3 %
Monamidosäurenstickstoff	*) 0,077 %	36,1 %
P-W.-Nied.-N direkt im Harn	0,140 %	63,9 %
P-W.-Filtr.-N direkt im Harn	0,077 %	36,1 %

Die Menge des Ammoniaks zeigt sich wohl gegenüber der Norm vermehrt, jedoch noch nicht zur vollen Höhe gelangt; dementsprechend weist auch der Phosphorwolframsäureniederschlag-N eine relativ hohe Zahl auf, die wohl durch die Harnsäure bedingt ist; die Menge des Stickstoffs der Monamidosäurenfraction ist sowohl gegen die Norm, wie gegen die Zahlen bei voller Höhe der nach Leberausschaltung eintretenden Veränderungen vermehrt; diese Thatsache soll im Zusammenhange mit späteren Versuchen gedeutet werden, durch welche dieselbe eine Erklärung erfährt.

Versuch VI.

Operation beendet um 11 $\frac{1}{2}$ Uhr: das Thier lebt noch Abends um 9 Uhr. Morgens todt gefunden. Der Harn wurde in getrennten Portionen aufgefangen und verarbeitet, um einen Einblick in den stufenweisen Verlauf der Stickstoffverschiebung zu erlangen: denn wie aus Minkowski's Versuchen hervorgeht, zeigt sich innerhalb der geringen Harnsäureausscheidung eine allmähliche Abnahme in den späteren Stunden nach der Leberexstirpation, bis ein constantes niedriges Niveau erreicht ist. Die erste Harnportion wurde nicht verarbeitet, die zweite war von 4–7 Uhr entleert worden, die dritte war der Kloake des todtten Thieres entnommen. Der Harn reagirte in diesem Versuche ausnahmsweise alkalisch und wurde deshalb, um Ammoniakverluste zu verhüten, in Salzsäure (normal) aufgefangen.

	Harnportion II		Harnportion III	
	In 100 ccm.	In Procenten des Gesamt-N	In 100 ccm.	In Procenten des Gesamt-N.
Gesamtnstickstoff	0,3528 %	—	0,3887 %	—
Magnesiastickstoff	0,2485 %	70,4 %	0,2597 %	66,8 %
Harnsäurebasenstickstoff . .	0,01701 %	4,82 %	0,0392 %	10,08 %
Monamidosäurenstickstoff . .	*0,0872 %	24,78 %	0,0973 %	25,04 %
P-W.-Nied.-N direkt im Harn	0,2716 %	76,9 %	0,2825 %	72,05 %
P-W.-Filtr.-N direkt im Harn	—	—	0,107 %	27,5 %

Versuch VII.

Operation beendet um 11¹/₂ Uhr: das Thier lebt noch um 10 Uhr. Der Harn wurde wieder in einzelnen Portionen untersucht, mit Ausschluss der zuerst entleerten. Die II. Portion war von 3¹/₂—4 Uhr, die III. von 4—7 Uhr entleert worden, die IV. in den letzten Lebensstunden, vereinigt mit dem der Blase des todtten Thieres entnommenen Harne.

Harnportion II.

	Gesamtnstickstoff	Magnesiastickstoff	Harnsäurebasenstickstoff	Monamidosäurenstickstoff
In 100 ccm. Harn	0,280 % ¹⁾	0,2044 %	0,0238 %	*0,0994 %
In Proc. des Gesamt-N .	—	73 %	8,5 %	18,5 %

Harnportion III.

In 100 ccm. Harn	0,2478 %	0,1624 %	0,014 %	*0,0714 %
		N NH ₃		
		Schlösing:		
		0,1568 %		
In Proc. des Gesamt-N .	—	65,53 %	5,52 %	28,95 %
		Schlösing:		
		63,27 %		

¹⁾ Diese Zahl stellt eine Minimalzahl dar, weil die Destillation (wegen Springens des Kolbens) nicht zu Ende geführt wurde; die Uebereinstimmung mit den anderen Werthen lässt jedoch den Ammoniakverlust, wenn überhaupt ein solcher vorlag, recht klein erscheinen.

Harnportion IV.

	Gesamtstickstoff	Magnesiastickstoff	Harnsäurebasenstickstoff	Monamidosaurenstickstoff
In 100 ccm. Harn	0.2310 ‰	0.1547 ‰	0.0203 ‰	* 0.056 ‰
In Proc. des Gesamt-N .	—	66.97 ‰	8.78 ‰	24.24 ‰

Ueberblickt man die gefundenen Resultate, so ergibt sich als auffallendstes Ergebniss die starke Vermehrung des Magnesiastickstoffes, entsprechend der bedeutenden Ammoniakzunahme, und eine Verminderung des im Phosphorwolframsäureniederschlage erhaltenen Stickstoffes, entsprechend der erheblichen Abnahme der Harnsäure. Die Zahlen stimmen sehr gut mit denen Minkowski's überein, nach welchem 50—60 ‰ des Gesamtstickstoffes als Ammoniak ausgeschieden werden, während die Harnsäure auf 3—6 ‰ des Gesamt-N sinkt. Wie aus den Zahlen, die bei Untersuchung der Einzelportionen erhalten wurden, hervorgeht, scheint in den späteren Lebensstunden nach der Entleberung eine leichte Zunahme des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffes stattzufinden: so stieg derselbe in Versuch VI von 4,8 auf 10 ‰, in Versuch VII von 5,5 auf 8,7 ‰. Da eine Steigerung der Harnsäureausscheidung sicher nicht stattfindet, muss die Zunahme durch andere Stoffe bedingt sein. Auch im Phosphorwolframsäurefiltrate macht sich eine geringe Steigerung gegen die Norm bemerkbar. Diese Zunahmen des Stickstoffes sind jedoch zu klein, um bestimmte Schlüsse daran zu knüpfen. Es wäre denkbar, dass diese Veränderung durch Ausscheidung von Spaltungsprodukten der Eiweisskörper, die Vermehrung der Harnsäurebasenfraction durch Auftreten von Diamidosäuren, die der Monamidosaurenfraction durch Auftreten von Amidosäuren bewirkt würde. Darauf abzielende Isolirungsversuche haben der geringen zu erhaltenden Substanzmengen wegen zu keinem Resultate geführt. Eine Klarlegung dieser Verhältnisse liess sich nur dann erhoffen, wenn es gelang, grössere Ausschläge in den einzelnen Fractionen zu erzielen.

V.

Zunächst erschien es geboten, den Einfluss zugeführter Amidosäuren auf die Stickstoffvertheilung (nach der Entlebung) zu untersuchen. Im normalen Vogelorganismus werden dieselben nach v. Knierim¹⁾ in Harnsäure übergeführt. Versuche Minkowski's mit Fütterung von Glycocoll, Leucin und Asparagin an entlebte Gänse hatten bereits ergeben, dass eine Vermehrung des Stickstoffs, bedingt durch eine Zunahme des Ammoniaks, erfolgt, und dass die Harnsäureausscheidung völlig unbeeinflusst bleibt.

Versuch VIII.

Operation beendet 11¹/₄ Uhr. Das Thier erhält unmittelbar nach der Operation 1 g Glycocoll durch die Schlundsonde und 1¹/₂ g Glycocoll subcutan; es lebt noch um 10 Uhr Abends. Der Harn wurde in zwei Portionen aufgefangen und zwar Portion I bis 5 Uhr, Portion II von 5 Uhr ab.

I. Harnportion.

	Gesamtstickstoff	Magnesiastickstoff	Harnsäurebasenstickstoff	Monamidosäurenstickstoff	P-W-Nied.-N direkt im Harn
In 100 cem. Harn . .	0.3922 %	0.2632 %	0.0245 %	0.1045 %	0.3276 %
In % des Gesamt-N	—	67.12 %	6.24 %	26.6 %	83.5 %

II. Harnportion.

In 100 cem. Harn . .	0.4242 %	0.2730 % (Schlössing: 0.310 %)	0.0147 %	0.1365 %	0.310 %
In % des Gesamt-N	—	64,3 % Schlössing: 2 73 %	3.46 %	32.24 %	73,0 %

1) v. Knierim l. c.

2) Ausnahmsweise sind in diesem Versuche die Ammoniakwerthe höher als die des Magnesiastickstoffes, ein Verhalten, das in keinem der Versuche beobachtet wurde und auf die Anwesenheit einer nach Glycocollfütterung auftretenden, dem Löwi'schen Körper ähnlichen Substanz hindeutet. (Vergl. diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 514.)

Die gefundenen Zahlen lassen eine Abweichung gegen die früheren Versuche nicht erkennen: der Zunahme des Gesamtstickstoffs entspricht eine gleiche des Ammoniaks, so dass die procentische Vertheilung ungestört bleibt; zugleich geht aus den gleich niedrig gebliebenen Werthen der Harnsäurebasenfraction hervor, dass eine Vermehrung der Harnsäure nicht erfolgt.

Ein ähnliches Resultat lieferte der folgende Versuch.

Versuch IX.

Operation beendet 11¹/₂ Uhr; unmittelbar nachher erhält das Thier asparaginsaures Natrium, und zwar 1 g subcutan und 1 g per os; es lebt noch um 9 Uhr Abends.

	In 100 cem. Harn	In Procenten des Gesamt-N
Gesamtstickstoff	0,7012 ‰	—
Magnesiastickstoff	0,3956 ‰	56,4 ‰
Harnsäurebasenstickstoff	0,01087 ‰	15,5 ‰
Monamidosäurenstickstoff	*) 0,2948 ‰	28,1 ‰

Der etwas höhere Werth der Harnsäurebasenfraction ist in diesem Versuche wohl durch eine etwas grössere Harnsäuremenge zu erklären: die Section des Thieres hatte ergeben, dass ein grösseres Leberstückchen, dicht der vena cava angelagert, zurückgeblieben war, und obwohl von nekrotischen Stellen durchsetzt, nicht ganz functionsunfähig gewesen sein mochte. Zu einer Harnsäurebestimmung reichte der spärlich entleerte, sehr concentrirte Harn nicht aus. Sonst stimmen die Zahlen sehr gut mit den früheren Versuchen überein. Für die niedriger als in anderen Versuchen ausgefallene Ammoniakmenge wäre auch eine andere Erklärung heranzuziehen.

Ein anderer mit Fütterung von Asparagin angestellter Versuch missglückte, indem das Thier zwei Stunden nach der Operation starb, ohne Harn entleert zu haben.

Jedenfalls geht aus diesen Versuchen hervor, dass ein-

geführte Amidosäuren die Stickstoffvertheilung nicht beeinflussen: sie verhalten sich also in dem der Leber beraubten Organismus genau so, wie die aus dem Abbau des Eiweisses hervorgegangenen Amidosäuren, d. h. es erfolgt eine Abspaltung von Ammoniak, welches im Harn vermehrt erscheint. Ob dieser Vorgang im normalen Vogelorganismus eine hervorragende Rolle bei der Harnsäurebildung spielt, in der Weise, dass die aus dem Eiweiss entstandenen Amidosäuren stets unter Ammoniakabspaltung zerfallen und erst dieses abgespaltene Ammoniak synthetisch in der Leber zur Harnsäurebildung verwertet wird, ist nicht mit Sicherheit zu entscheiden: das Resultat der nachfolgenden Versuche lässt jedenfalls Zweifel an dieser Auffassung berechtigt erscheinen.

VI.

Auffallendere Unterschiede in der Stickstoffvertheilung waren zu erwarten, wenn es gelang, auf Kosten der Ammoniakausscheidung anderen stickstoffhaltigen Substanzen einen breiteren Spielraum zu gewähren.

Da die reichliche Ausscheidung einer Säure (Milchsäure) durch Minkowski erwiesen war, lag der Gedanke nahe, ob die vermehrte Ausscheidung von Ammoniak nicht die Bedeutung einer Säureneutralisation besitze und durch Alkalidarreichung unterdrückt werden könne.

Minkowski macht in seiner Abhandlung *Die Störungen der Leberfunction* (Lubarsch-Ostertag) in summarischer Weise Mittheilung über das Ergebniss solcher von R. Engelmann ausgeführter Versuche,¹⁾ nach welchen sich die Am-

1) Herr Professor Minkowski hatte die grosse Güte, mir das Resultat dieser auf seine Veranlassung ausgeführten und nicht publicirten Versuche näher bekannt zu geben. Es liess sich durch Alkalidarreichung ein bedeutendes Absinken des Ammoniaks erreichen, während ein Ansteigen der Harnsäureausscheidung nicht beobachtet wurde: in einem Falle fehlten 70% des Stickstoffs, die nicht als Ammoniak, Harnsäure oder Harnstoff vorhanden waren. Ebenso verdanke ich Herrn Professor Minkowski die werthvolle Angabe, dass es nicht gelingt, den Thieren nach der Operation genügende Mengen Alkali beizubringen, dass man hingegen dem Organismus einen genügenden Alkalivorrath zuführen könne, wenn man die Thiere einige Tage vorher mit Alkalicarbonat füttert.

moniakausscheidung entleberter Gänse durch Alkalizufuhr beträchtlich herabdrücken lasse, ohne dass eine Steigerung der Harnsäureausscheidung eintritt, und schliesst daraus, dass die Störung der Harnsäurebildung nach Ausfall der Leberfunction bei den Vögeln nicht allein auf der Ammoniakentziehung durch die Milchsäure beruhe.

Ich lasse die Resultate einiger Versuche folgen:

Versuch X.

Eine Gans erhält durch vier Tage je 5 g Natriumbicarbonat durch die Schlundsonde eingegossen. Am Tage der Operation vor derselben 2¹/₂ g, nach derselben wieder 2¹/₂ g NaHCO₃. Operation beendet 11¹/₂ Uhr; das Thier lebt noch spät am Abend. Morgens todt gefunden.

	In 100 ccm. Harn	In Procenten des Gesamt-N
Gesamtstickstoff	0.2352 %	—
Magnesiastickstoff	0.1136 %	48.3 %
N(NH ₃) nach Schlösing	0.098 %	41.6 %
Harnsäurebasenstickstoff	0.0487 %	20.73 %
Monamidosäurenstickstoff	0.0728 %	30.96 %
Harnsäurestickstoff ¹⁾	0.0132 %	5.6 %

1) Die Harnsäurebestimmung wurde nach Hopkins durch Sättigen mit NH₄Cl und nachheriges Wägen der durch HCl aus dem Ammonurat frei gemachten Harnsäure bestimmt. Da durch die Sättigung mit Salz auch Spuren eines Eiweisskörpers sowie Gallenfarbstoff mitgefällt wurden, war es nöthig, die heisse Lösung des Ammonurats noch einmal zu filtriren, wobei der Eiweissniederschlag sowie der grösste Theil des Gallenfarbstoffs zurückblieb. Der Rest des letzteren lässt sich nach Abscheidung der freien Harnsäure leicht durch Alkohol entfernen. Wie gross der Fehler bei Ausserachtlassung dieser Angaben werden kann, lehrt folgender Vorversuch: Eine gemessene Harnmenge wurde mit NH₄Cl gesättigt, filtrirt (nach vierstündigem Stehen), der Niederschlag mit 20% (NH₄)₂SO₄ gewaschen, dann in 2%iger N-freier Natronlauge gelöst und das Ammoniak in der Kälte (durch mehrtägiges Stehen der Flüssigkeit über Säure) vertrieben (Erhitzen wurde vermieden, um den Stickstoff des eventuell mitgefällten Eiweisses nicht zu verjagen), hierauf die ammoniak-

Versuch XI.

Eine Gans erhält 2 Tage hindurch je 5 g NaHCO_3 . Vor der Operation 2 g, nach der Operation 2 g. Operation beendet um 12 $\frac{1}{2}$ Uhr.

Um 3 $\frac{1}{2}$ Uhr werden 3 g NaHCO_3 eingegossen, die teilweise wieder erbrochen werden.

Um 5 $\frac{1}{2}$ Uhr werden nochmals 2 g gereicht. Erst der nach 5 $\frac{1}{2}$ Uhr entleerte Harn reagirt alkalisch und wird deshalb in vorgelegter Säure aufgefangen.

Tod unter Krämpfen um 7 $\frac{1}{2}$ Uhr.

	In 100 cem. Harn	In Procenten des Gesamt-N
Gesamtstickstoff	0.1008 ‰	—
Magnesiastickstoff	0.0420 ‰	41.6 ‰
N (NH_3) nach Schlösing	0.0364 ‰	36.15 ‰
Harnsäurebasenstickstoff	0.0238 ‰	23.6 ‰
Monamidosäurenstickstoff	0.03430 ‰	34.0 ‰
P-W-Nied.-N. direkt im Harn	0.0630 ‰	62.5 ‰
P-W-Filtr.-N. direkt im Harn	0.0392 ‰	38.8 ‰

Versuch XII.

Eine Gans erhält durch 4 Tage je 5 g NaHCO_3 per os. Operation am 4. Tage der Fütterung, beendet um 11 $\frac{1}{2}$ Uhr. Tod um 1 $\frac{1}{2}$ Uhr. Der reichlich entleerte Harn war sehr verdünnt. Trotz der kurzen Lebensdauer des Thieres erscheinen die gefundenen Resultate gut verwerthbar.

freie Flüssigkeit einer Stickstoffbestimmung unterworfen. Es fanden sich so 20 ‰ des Gesamtstickstoffs, während der gesammte P-W-Nied.-N nach der Mg-Destillation nur 17 ‰ betrug und nur zum geringsten Theil aus Harnsäure bestand.

In einem anderen Versuche, in welchem die Lösung des Ammonurats mit Lauge gekocht worden war, betrug der gefundene Stickstoff immer noch 13 ‰ des Gesamtstickstoffs, während der Harnsäure nur 5.6 ‰ entsprachen.

	In 100 cem. Harn	In Procenten des Gesamt-N
Gesamtstickstoff	0.066 ‰	—
Magnesiastickstoff	0.004 ‰	6.0 ‰
Harnsäurebasenstickstoff	0.0115 ‰	17.42 ‰
Monamidosaurenstickstoff	* 0.0505 ‰	76.52 ‰
P-W-Nied.-N. direkt im Harn	0.016 ‰	24.25 ‰
P-W-Filtr.-N. direkt im Harn	0.0500 ‰	75.75 ‰

Die niedrige Zahl des P-W-Nied.-N kann als Beweis dafür angesehen werden, dass eine erhebliche Harnsäureproduktion nicht stattgefunden hatte. Es war daher (nach Analogie der früheren Versuche) eine beträchtliche Vermehrung der Ammoniakmenge zu gewärtigen, welche jedoch unter dem Einfluss des Alkalis ausblieb.

Versuch XIII.

Eine Gans erhält durch 3 Tage je 4 g NaHCO_3 in 2 Dosen täglich. Vor der Operation 2 g. Operation beendet um 11 Uhr. Da in den vorhergehenden Versuchen die vorherige Beibringung des Alkalis nicht zu genügen schien, wurden nach der Operation noch einzelne kleine Mengen in grösseren Zwischenräumen dargereicht. Dieses Verfahren empfahl sich auch im Hinblick auf die Erfahrung, dass einige Thiere, denen grössere Mengen (5—6 g) nach der Operation gereicht wurden, rasch unter Krämpfen zu Grunde gingen.

Um 2 Uhr werden 3 g NaHCO_3 eingegossen.

Um 5 $\frac{1}{4}$ „ „ 2 g NaHCO_3 „

Um 7 „ „ 2 g NaHCO_3 „

Der bis kurz vor 7 Uhr entleerte Harn reagierte immer noch sauer. Er wurde daher getrennt von der später entleerten, alkalisch reagirenden Harnportion verarbeitet.

Das Thier lebte noch um 8 Uhr Abends. Morgens todt gefunden.

Harnportion I.

	Gesammt-N	Magnesia-N	N(NH ₃) nach Schlösing	Harnsäure- basen- stickstoff	Monamido- säuren- stickstoff
In 100 cem. Harn	0.1498 ‰	0.0847 ‰		0.01960 ‰	*) 0.0455 ‰
In ‰ d. Gesammt-N	—	56.5 ‰	—	13.08 ‰	30.42 ‰

Harnportion II.

In 100 cem. Harn	0.1512 ‰	0.0532 ‰	0.050 ‰	0.03290 ‰	* 0.0651 ‰
In ‰ d. Gesammt-N	—	35.18 ‰	30.2 ‰	21.76 ‰	43.06 ‰

Harnsäurestickstoff in Portion II 8.3 ‰ des Gesammtstickstoffs.

Um einen Vergleich mit den früheren Versuchen zu erleichtern, stelle ich in folgender Tabelle (Seite 336) die Resultate (in Procenten des Gesammtstickstoffs ausgedrückt) zusammen.

VI.

Wie aus den Werthen des Magnesiastickstoffs¹⁾ ersichtlich, gelang es in der That, durch Zufuhr von Natriumbicarbonat die Ammoniakausscheidung beträchtlich herabzusetzen. Der durchschnittlich 65 ‰ des Gesammt-N betragende Stickstoff des Ammoniaks sinkt bis auf 32 ‰, also um die Hälfte; die in einem Versuche beobachtete Herabsetzung auf 6 ‰ fand bei einem Thiere statt, das nur zwei Stunden gelebt hatte und bei welchem die Ammoniakausscheidung wohl noch nicht ihre maximale Höhe erreicht hatte, wie aus dem ähnlichen Versuche V zu ersehen ist, der ebenfalls ein Thier von kurzer Lebensdauer betrifft. Immerhin muss in diesem Versuche (XII) die Ammoniakmenge um mehr als die Hälfte herabgedrückt worden sein, wie bei der Beschreibung des Versuches (S. 333) näher ausgeführt ist. Allerdings bleibt es zweifelhaft, ob die gereichten Alkalimengen, genügende Resorption vorausgesetzt,

¹⁾ In allen Alkaliversuchen wurde das Ammoniak auch nach Schlösing bestimmt; die hier erhaltenen Zahlen entsprechen dem wahren Ammoniakwerthe, worauf es bei diesen Versuchen allein ankam.

Art des Versuches	Lebensdauer des Thieres	Magnesia N	N (NH ₂) Schlössing	Harnsäure- Basen- Stickstoff	Monamido- säuren- Stickstoff	N (I)
Versuch IV. Leberexstirpation	Mehr als 10 Stunden	68,9 °/o	67,67 °/o	5,3 °/o	25,8 °/o	—
Versuch V. Leberexstirpation	4 Stunden	38,6 °/o	59,53 °/o	25,3 °/o	36,1 °/o	—
Versuch VI.	2. Harnportion	70,4 °/o	59,53 °/o	4,82 °/o	24,78 °/o	—
	3.	66,8 °/o	—	10,08 °/o	25,04 °/o	—
Versuch VII.	2.	73 °/o	—	8,5 °/o	18,5 °/o	—
Leberexstir- pation	3.	65,53 °/o	63,27 °/o	5,52 °/o	28,95 °/o	—
	4.	66,97 °/o	—	8,78 °/o	24,24 °/o	—
Versuch VIII.	1.	67,12 °/o	—	6,24 °/o	26,6 °/o	—
Glycecoll- fütterung	2.	64,3 °/o	73 °/o	3,46 °/o	32,24 °/o	—
Versuch IX. Fütterung von asparaginsäurem Natrium	Mehr als 10 Stunden	56,4 °/o	—	15,5 °/o	28,1 °/o	—
Versuch X. NaHCO ₃	Mehr als 10 Stunden	48,3 °/o	41,6 °/o	20,73 °/o	30,96 °/o	5,6 °/o
Versuch XI. NaHCO ₃	7 Stunden	41,6 °/o	36,15 °/o	23,6 °/o	34,0 °/o	8,2 °/o
Versuch XII. NaHCO ₃	2 Stunden	6,0	—	17,42 °/o	76,52 °/o	—
Versuch XIII. 1. Harnportion NaHCO ₃	9 Stunden	56,5 °/o	30,2	13,08 °/o	30,4 °/o	—
NaHCO ₃ 2.	9 Stunden	35,18 °/o	30,2	21,76 °/o	43,0 °/o	8,3 °/o

zur Neutralisation der gebildeten Säure genügen. Denn trotz der tagelang vorhergehenden Darreichung von Natriumbicarbonat sowie der relativ grossen Mengen, die in anderen Versuchen auch nach der Operation gereicht wurden, schlug die saure Reaction des Harnes erst spät in die alkalische um. Die Zahlen des Versuches XIII sind in dieser Richtung lehrreich, weil sie zeigen, wie im Anfange trotz des Alkalis die Ammoniakzahl sich hoch erhält, um erst spät erheblich abzusinken.

Uebrigens kann die alkalische Reaction des Harnes nach Fütterung von Alkali an entlebete Gänse auch nicht als sicherer Beweis dafür gelten, dass dem Organismus genügend Alkali zur Verfügung steht; denn nach der Leberextirpation fliesst das aus dem Magendarmtracte kommende Blut durch die Vena Jacobsonii direkt (unter Vermittlung einer Vena advehens) in die Nierenvene und es wäre möglich, dass es so zur Abscheidung eines alkalischen Harnes kommt, ehe die Gewebe mit Alkali übersättigt sind. Die Schwierigkeit, im Organismus entstandene Säuren zu sättigen, für welche aus der menschlichen Pathologie das Coma diabeticum ein Beispiel bietet, steht im auffallenden Gegensatze zu der Leichtigkeit, mit der die Entgiftung von aussen zugeführter Säuremengen im Thierversuche gelingt. Jedenfalls zeigt sich in den Alkaliversuchen eine deutliche Verschiebung der Stickstoffvertheilung, die nicht nur den Magnesiastickstoff betrifft: an Stelle des unterdrückten Ammoniaks tritt eine Vermehrung der Phosphorwolframsäurefällung und eine geringe Vermehrung des Monamidosäurenstickstoffs auf.

Da eine Vermehrung der Harnsäure nach Alkalidarreichung nicht eintritt, sind die die Zunahme der Harnsäurebasenfraction bedingenden Körper wohl zur Gruppe der Diamidosäuren (Arginin oder Ornithin) zu rechnen. Dass die aus dem Eiweiss hervorgehenden Amidosäuren im Harn entlebeter Thiere nicht ohne Weiteres zur Ausscheidung kommen, scheint darin begründet zu sein, dass der Organismus dieselben bei Anwesenheit grösserer Säuremengen sofort unter Ammoniakabspaltung weiter zersetzt und das abgespaltene Ammoniak zur Neutralisation der Säure verwendet.

Zu Gunsten dieser Anschauung scheint auch das Verhalten eingeführter Amidosäuren zu sprechen. Nach Fütterung derselben an entlebte Thiere (Versuch VIII und IX) trat eine Aenderung der Stickstoffvertheilung nicht ein. Die Amidosäuren stellen eben für den der Leberfunction beraubten Vogelorganismus ein Material dar, das er ebensogut als Mittel zur Säureneutralisation benützt, indem er sie unter Ammoniakabspaltung zersetzt, wie die aus dem Eiweisszerfalle im Organismus hervorgehenden.

Ebenso könnten die ganz vereinzelt dastehenden hohen Zahlen der Monamidosäurenfraction in Versuch V und XII auf dem Boden dieser Thatsache eine Erklärung finden. Beiden Versuchen gemeinsam ist die kurze Lebensdauer der Thiere: die Säurebildung scheint zur Zeit des Todes noch keine solche Höhe erreicht zu haben, um alles aus Amidosäuren verfügbare Ammoniak an sich zu reissen: infolge dessen könnten die Amidosäuren unverändert im Harn erscheinen, naturgemäss bei dem mit Alkali gefütterten Thiere in viel grösserem Maassstabe. Ferner ist es nicht unwahrscheinlich, dass die relativ niedrige Ammoniakzahl im Versuche IX, in welchem asparaginsaures Natrium verfüttert wurde, auf die neutralisirende Wirkung des darin enthaltenen Natriums zurückzuführen ist.

Für den durch Alkali nicht unterdrückbaren Antheil des Ammoniaks scheint eine Erklärung nicht unmöglich. Wenn die Vorstellung gerechtfertigt ist, dass der Aufbau der Harnsäure bei den Vögeln, analog wie es für die Harnstoffbildung beim Säugethier wahrscheinlich ist, aus Amidosäuren in Gegenwart von Ammoniak in der Leber stattfindet, würde es nicht befremden, bei ausgeschalteter Leberfunction neben Amidosäuren¹⁾ (einschl. Diamidosäuren) auch Ammoniak in erheblicher Menge zu finden.

Durch die Zwischenkunft eines zweiten, mit der Leberausschaltung im ursächlichen Zusammenhange stehenden Processes, des Auftretens grösserer Mengen von Milchsäure, ge-

¹⁾ Ich gebrauche den Ausdruck Amidosäuren hier und im Folgenden in ganz allgemeiner Bedeutung.

langen eben die Amidosäuren nicht als solche zur Ausscheidung, sondern werden unter Ammoniakabgabe gespalten. Nach dieser Auffassung wäre die Ammoniakausscheidung nach der Leberausschaltung auf eine doppelte Quelle zurückzuführen, wie dies auch den Verhältnissen der Stickstoffbindung im Eiweiss entspricht. Auf Grund der bisherigen Untersuchungen (Nasse, Hausmann, Kossel und Kutscher) ist ein Theil des Stickstoffs im Eiweissmolekül in so lockerer Bindung vorhanden, dass er daraus durch Säure und Alkali leicht abgespalten werden kann. Wie eine demnächst zur Publication gelangende Untersuchung von Dr. Mochizuki aus dem hiesigen Institute gelehrt hat, tritt ein Theil des Eiweissstickstoffs (Nasse's und Hausmann's Amidostickstoff) auch bei der Trypsinverdauung in Form von Ammoniak aus. Dass dieser, allerdings relativ kleine Theil, auch im intermediären Stoffwechsel als Ammoniak abgespalten wird und als solches zur Harnsäuresynthese dient, ist naheliegend.

Für den fester gebundenen Stickstoff des Eiweisses, welcher bei Säure- und Trypsinwirkung in Form von Amidoverbindungen und deren Derivaten erhalten wird, ist eine vitale Ueberführung in Ammoniak an die Einwirkung von Fermenten geknüpft, welche die Fähigkeit besitzen, solchen festgebundenen Stickstoff loszulösen. In der That ist nach Loewi's¹⁾ und Jacoby's²⁾ Erfahrungen die Existenz derart wirksamer proteolytischer Fermente nicht mehr zu bezweifeln.

Damit hat die von Minkowski gehegte Vorstellung, dass die Umwandlung von Amidosäuren der Fettreihe im Organismus des Vogels in der Weise von Statten geht, dass zunächst Ammoniak und zwar auch ausserhalb der Leber abgespalten wird, eine gesicherte, auch für den Säugethierorganismus gültige Grundlage erhalten.

Wenn man jedoch in den vorliegenden Versuchen sieht, dass diese Abspaltung von der Grösse der Säurebildung abhängig ist und bei ausreichender Alkalizufuhr zum Theil unter-

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 55.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 152.

bleibt, so wird man kaum geneigt sein, anzunehmen, dass diese Ammoniakabspaltung immer und in ganzem Umfange erfolgt.

Eher scheint hier auch einer jener wunderbaren Regulierungsmechanismen vorzuliegen, an denen die Organismen so reich sind und der im gegebenen Falle die Aufgabe hätte, die Grösse der fermentativen Ammoniakabspaltung dem Alkalibedarf des Körpers anzupassen. Dabei macht es den Eindruck, als ob beim Vogel für den Zweck der Neutralisation vor Allem die Monamidosäuren ihren Stickstoff abgäben, da die Vermehrung des Amidosäurenstickstoffs nach Alkalizufuhr vorwiegend in dem durch Phosphorwolframsäure fällbaren Antheil zu Tage tritt.¹⁾

Dass die Störung der Harnsäuresynthese durch die Leberausschaltung nicht eine Folgeerscheinung des vermehrten Säureauftretens darstellt, geht ohne Weiteres aus der Thatsache hervor, dass Alkalizufuhr keinen Einfluss auf die Harnsäureausfuhr äussert.

Wenn aber auf Grund der ersten Versuche Minkowski's die Vorstellung kaum abzuweisen war, das an Stelle der Harnsäure auftretende Ammoniumlactat sei die normale Vorstufe der in der Leber entstehenden Harnsäure, so wird man angesichts der Abhängigkeit der Ammoniakausscheidung von der Alkalizufuhr eine erneute Prüfung dieser Verhältnisse wünschenswerth finden.

Ich hoffe, dieser Frage bald auf einem bisher nicht eingeschlagenen Wege näher treten zu können.

1) Ein Seitenstück hierzu bildet das Auftreten der Ornithursäure nach Zufuhr von Benzoessäure. Auch in diesem Fall widersteht eine Diamidosäure, das Ornithin, im Vogelorganismus der Zersetzung.