

**Über die Veränderung der Ausscheidung von Aminosäuren,
bezw. von formtitrierbaren Stoffen, als eine Ursache der
Vergrößerung des $\frac{\text{Cal}}{\text{N}}$ -Quotienten nach größeren Blutverlusten.**

Von

Dionys Fuchs.

Aus dem physiologischen Institut der kgl. ung. Franz-Josef-Universität, Kolozsvár.)

(Der Redaktion zugegangen am 17. Oktober 1910.)

In früheren Versuchen über den Einfluß großer Blutverluste auf den Eiweiß- und Energieumsatz¹⁾ fand ich unter anderem, daß der $\frac{\text{Cal}}{\text{N}}$ -Quotient (Energiequotient) des Harnes nach größeren Blutverlusten eine Steigerung erfährt, der Harn also im Verhältnis zu seinem N-Gehalte energiereichere Stoffe enthält als zuvor. Dies berechtigte mich zu der Annahme, daß der Harn nach Blutverlusten unvollkommen oxydierte Stoffe in größerer Menge enthält. Ich wies dort auch auf die verschiedenen denkbaren Ursachen der Vergrößerung des Energiequotienten, so auch darauf hin, daß diese Veränderung des Energiequotienten — abgesehen von den Veränderungen, welche in den Oxydationsvorgängen eintreten können — mit jenen Stoffwechselfvorgängen im Zusammenhange stehen kann, welche mit der Regeneration des Blutes einhergehen.

Damit diese Annahme, welche mir später als die wahrscheinlichste erschien, auch auf experimentellem Wege bestätigt werden könne, untersuchte ich die Ausscheidung von Aminosäuren nach der Blutentnahme und folgte hierbei der folgenden Überlegung: Die mit der nach Blutverlusten sich einstellenden Blutneubildung zusammenhängenden chemischen Prozesse,

¹⁾ Dionys Fuchs, Über den Einfluß großer Blutverluste auf den Eiweiß- und Energieumsatz. Pflügers Archiv f. d. g. Physiol., Bd. CXXX, S. 156 (1909).

hauptsächlich der die Umwandlung der Eiweißkörper begleitende Eiweißabbau und der diesem folgende Eiweißaufbau, geben in erhöhtem Maße dazu Gelegenheit, daß Aminosäuren, als bei der Synthese unbrauchbare Abfallprodukte, ins Blut und von hier in den Harn übertreten. In Anbetracht dessen, daß die Aminosäuren gegenüber den letzten Zerfallprodukten des Eiweißstoffwechsels einen bedeutenderen Energiegehalt aufweisen, darf einerseits schon ein mäßiger Zuwachs der Ausscheidung von Aminosäuren, andererseits bei unveränderter Ausscheidung der Aminosäuren eine Verringerung des Gesamtstickstoffes des Harnes, als ein solcher Umstand betrachtet werden, welcher die Vergrößerung des Energiequotienten des Harnes nach Blutverlusten — wenigstens zum Teil — erklären kann. An dieser Erklärung können wir um so eher festhalten, da aus meinen früheren Versuchen unzweideutig hervorgeht, daß Blutverluste gerade den Eiweißstoffwechsel in charakteristischer Weise verändern.

Die Untersuchungen führte ich an einem Hunde und an zwei Kaninchen aus und zwar in derselben Anordnung, wie es in der zitierten Arbeit beschrieben wurde. Die Tiere wurden 8—10 Tage vor Beginn der Versuchsreihen in einen Stoffwechsellkäfig gebracht und erhielten dieselbe Kost, welche auch später während der eigentlichen Versuche verabreicht wurde. Die Versuchstiere verzehrten ihr Futter in allen Versuchsreihen sowohl vor als nach der Blutentnahme stets ohne Verlust. Die zum Zwecke der Blutentziehung in der Halsregion gesetzten Wunden heilten in allen Fällen per primam. Der Harn der Tiere wurde in unter die Käfige gestellten und mit verdünnter Salzsäure beschickten Gefäßen gesammelt. Außerdem wurde, um die tägliche Menge pünktlicher zu erhalten, der Hund und das II. Kaninchen täglich, das I. Kaninchen jeden zweiten Tag katheterisiert; die vollständige Entleerung der Blase wurde hierbei stets sorgfältigst beachtet.

Der Stickstoffgehalt des Harnes wurde nach Kjeldahl,¹⁾ der NH_3 -Gehalt nach Krüger-Reich²⁾ bestimmt. Zur Bestim-

¹⁾ Katalysator: Quecksilber.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 165 (1903).

mung der Aminosäuren des Harnes benützte ich zuerst die Methode von Pfaundler¹⁾ in der von Leersum²⁾ empfohlenen Modifikation. Es stellte sich aber alsbald heraus, daß diese Methode unvollkommen ist, da der Grad der Verdünnung des Harns die auf diese Weise bestimmte Menge des Aminosäurestickstoffs beträchtlich verändert. Trotzdem die Nahrung der Tiere die gleiche blieb, haben sich in den Tagesmengen der Aminosäuren kaum erklärbare Schwankungen gezeigt, die nur den Fehlerquellen der Methode selbst zuzuschreiben sind. Ein weiterer Nachteil der Methode ist der, daß die Kolben während des Aufschließens des Harnes (mit Phosphorsäure) öfter bersten.

Zweckmäßiger erschien die mittlerweile von Henriques³⁾ empfohlene «formoltrimetrische Methode». Betreffs der Einzelheiten derselben verweise ich auf die Originalabhandlungen⁴⁾ und möchte hier nur noch erwähnen, daß ich in meinen Bestimmungen nach der verbesserten Henriques-Sörensen-schen²⁾ Methode so verfuhr, daß ich aus dem vorher mit BaCl_2 und $\text{Ba}(\text{OH})_2$ behandelten Harne das NH_3 im Vakuum nach Krüger-Reich entfernte. Der so erhaltene Rückstand diente dann zur eigentlichen Bestimmung der Aminosäuren, welche darin bestand, daß die Lösung zunächst gegen Lackmus neutralisiert und hierdurch — unter Zugabe von Formol — mit n_{35} -NaOH bis zur stark roten Farbe des Phenolphthaleins titriert wurde.

Da der Harn verschiedene stickstoffhaltige und säureartige Stoffe (Oxyproteinsäuregruppe, Uroferrinsäure usw.) enthält, kann auch diese Methode der Bestimmung der Aminosäuren nicht für vollkommen fehlerfrei betrachtet werden. Wahrscheinlich sind die so erhaltenen Werte etwas höher als

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 75 (1900).

²⁾ Biochemische Zeitschrift, Festband, S. 121 (1909).

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LX, S. 1 (1909).

⁴⁾ Sörensen, Biochemische Zeitschrift, Bd. VII, S. 45 (1907). — Henriques und Sörensen, Diese Zeitschrift, Bd. LXIII, S. 27 (1909) und Bd. LXIV, S. 120 (1910). — Frey und Gigon, Biochem. Zeitschrift, Bd. XXII, S. 309 (1909). — H. Malfatti, Diese Zeitschrift, Bd. LXI, S. 499 (1909) und Bd. LXVI, S. 152 (1910). — L. de Jager, Diese Zeitschrift, Bd. LXV, S. 185 (1910).

die wahren Werte des Aminosäuregehaltes des Harnes. Die Methode kann aber zu Vergleichszwecken, zu welchen auch ich sie verwandte, mit genügender Zuversicht herangezogen werden.

Weitere Versuche dienten zur Prüfung der Meinung von Frey und Gigon,¹⁾ nach welcher die Methode Spiros²⁾ zum Austreiben bzw. zur Bestimmung des Ammoniaks während der Vorbereitung des Harnes zur Bestimmung der Aminosäuren sehr zweckmäßig erscheint. Da ich in der Literatur diesbezüglich keine zahlenmäßigen Daten finden konnte, teile ich kurzgefaßt die Methode und die Resultate meiner Versuche mit.

Je 10 ccm einer n_{10} -NH₄Cl-Lösung (F. = 0,9674; mit PtCl₄ eingestellt) wurden in Meßzylinder von geeigneter Größe gebracht, mit der vorgeschriebenen Menge Ba(OH)₂-Lösung und Alkohol vermischt; die Meßzylinder wurden dann mit je 50 ccm n_{10} -H₂SO₄ enthaltenden Absorptionsgefäßen verbunden. Hierauf wurde durch das ganze System, mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe, mit konzentrierter Schwefelsäure und konzentrierter Kalilauge gewaschene Luft verschieden lange Zeit in starkem Strome hindurchgeleitet. Die Resultate dieser Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Dauer des Luftstromes in Stunden	Von 9.67 ccm n_{10} -NH ₃ wurden gebunden				Ungebunden geblieben
	I	II	III ³⁾	Zusammen	
4	8,625	0,057	0,01	8,692	0,982
7	9,132	0,057	—	9,189	0,485
15	9,44	0,057	—	9,497	0,177
20	9,49	0,209	—	9,699	—

Es ist ersichtlich, daß die letzten Spuren des Ammoniaks sehr schwer aus der Lösung auszutreiben sind, und daß zum vollständigen Entfernen desselben wenigstens ein 20stündiger kräftiger Luftstrom erforderlich ist. Die Bestimmungen wurden stets doppelt ausgeführt und zeigten eine vollkommene Übereinstimmung.

¹⁾ l. c.

²⁾ Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol., Bd. IX, S. 481 (1907).

³⁾ Die römischen Zahlen geben die Reihenfolge der hintereinander gekuppelten Absorptionsgefäße an.

Der in den Meßzylindern zurückbleibende Ammoniak konnte mit Hilfe des Krüger-Reichschen Verfahrens stets quantitativ bestimmt werden: dieser Umstand spricht gleichfalls zugunsten der Brauchbarkeit der letzteren Methode. Bezüglich der nach Krüger-Reich ausgeführten Bestimmungen ist es von Wichtigkeit, daß in den als Vorlagen dienenden Peligot-Gefäßen die $n/10$ -Schwefelsäure in großem Überschuß vorhanden sei. Das geht auch aus den mit der erwähnten NH_4Cl -Lösung und zwei nacheinander gekuppelten Peligot-Gefäßen ausgeführten Versuchen hervor, welche zeigen, daß zur Bindung von 10 ccm $n/10$ - NH_3 (Lösung) wenigstens 50 ccm $n/10$ -Schwefelsäure erforderlich sind. Zur Feststellung dessen, daß in dem Peligot-Gefäß der gesamte Ammoniak gebunden wurde, verwendete ich eine mit Nessler-Reagens gefüllte und mit dem Peligot-Gefäß verkuppelte Gaswaschflasche. Die Einschaltung letzterer ist übrigens zu Beginn der Bestimmung auch für die Beurteilung der Geschwindigkeit des Luftstromes von Nutzen.

Mit Hilfe der beschriebenen Methoden führte ich im ganzen 4 Versuchsreihen aus — 2 an einem Hunde und 2 an Kaninchen.

Die folgenden Tabellen¹⁾ zeigen die gewonnenen Ergebnisse.

Aus diesen Zahlen geht eindeutig und unzweifelhaft hervor, daß die Menge des Aminosäurenstickstoffs bzw. der formoltitierbaren Stoffe nach größeren Blutverlusten sowohl absolut, als auch im Verhältnis zu dem Gesamtstickstoff des Harnes anwächst. Die Steigerung in der Ausscheidung von Aminosäuren bzw. von formoltitierbaren Stoffen dauert nach den Blutverlusten längere Zeit an und hört beiläufig dann auf, d. h. die Ausscheidung der Aminosäuren kehrt zu den vor dem Blutverluste bestandenen Werten erst dann zurück, wenn die Regeneration des Blutes vollständig geworden, worauf nach ungefähr 3 Wochen gerechnet werden darf. Besonders hervortretend ist der relative Zuwachs des Aminosäurenstickstoffs im Vergleich zum Gesamtstickstoff des Harnes in den an Kaninchen angestellten Versuchen; dasselbe Ergebnis zeigt sich übrigens auch in den am Hunde ausgeführten Versuchsreihen. Die Er-

¹⁾ S. 486—490.

gebnisse der letzteren Versuche gewinnen noch dadurch an Interesse, daß zu beiden Versuchen ein und dasselbe Tier diente, und daß nach der zweiten Blutentnahme, welche im Vergleiche zur ersten viel größer war, auch die Reaktion in der Ausscheidung der Aminosäuren eine größere wurde.

Die sowohl vor, wie auch nach der Blutentnahme bestimmte absolute und relative Menge des ausgeschiedenen Ammoniaks zeigte eine gute Übereinstimmung. Es geht hieraus hervor, daß der Blutverlust keinen besonderen Einfluß auf die Ausscheidung des Ammoniaks ausübt.

I. Versuchsreihe.

Tagesmenge der Nahrung $\left\{ \begin{array}{l} 50 \text{ g Fleischmehl} \\ 80 \text{ » Hundekuchen (Fattiger).} \end{array} \right.$

Am 24./III. wurden aus der rechten Carotis 110 ccm Blut entnommen.

Ver- suchs- tag	Datum	Körper- gewicht des Tieres g	Die Tagesmenge des Harnes enthielt								
			N g	Aminosäure-N		Ammoniak-N					
				g	%	g	%				
1	18. III.	7300	7,69	0,116	1,50	0,295	3,83				
2	19. »	7270	7,30	0,104	1,42	—	—				
3	20. »	7270	7,28	0,123	1,68	0,279	3,67				
4	21. »	7250	7,42	0,119	0,115	1,60	1,56	0,292	0,275	3,93	3,75
5	22. »	7100	7,22	0,123	1,70	0,254	3,51				
6	23. »	7000	7,26	0,108	1,48	0,283	3,91				
7	24. »	7000	7,19	0,112	1,59	0,266	3,69				
8	25. »	7000	7,18	0,116	1,60	0,239	3,31				
9	26. »	7000	7,75	0,123	1,70	—	—				
10	27. »	7000	7,64	0,134	1,74	0,325	4,25				
11	28. »	6850	7,08	0,116	0,127	1,64	1,70	0,279	0,279	3,93	3,80
12	29. »	6850	6,80	0,123	1,81	0,237	3,48				
13	30. »	6850	7,63	0,127	1,66	0,304	3,98				
14	31. »	6890	7,50	0,151	2,01	0,289	3,85				
15	1. IV.	6800	6,79	0,123	1,81	0,257	3,78				
17	3. »	6800	7,39	0,123	1,66	0,239	3,23				
19	5. »	6800	6,95	0,116	0,120	1,63	1,72	0,253	0,258	3,64	3,62
21	7. »	6850	6,86	0,123	1,79	0,245	3,57				
23	9. »	6850	7,62	0,116	1,52	0,297	3,89				

III. Versuchsreihe.

Tagesmenge der Nahrung { 30 g Hafer
100 » Kohl.

Am 23./III. wurden aus der rechten Carotis 25 ccm Blut entnommen.

Versuchstag	Datum	Körpergewicht des Tieres g	Die Tagesmenge des Harns enthielt				Ammoniak-N
			N g	μ	Aminosäure-N %	g	
2	16.—17. III.	1570	1,11	0,049	4,40	0,014	1,36
4	18.—19. »	1580	1,00	0,046	4,62	0,013	
6	20.—21. »	1550	1,169	0,051	4,39	0,018	
8	22.—23. »	1560	0,997	0,046	4,64	0,012	
10	24.—25. »	1550	1,149	0,051	4,29	—	1,40
12	26.—27. »	1550	0,79	0,046	5,83	0,011	
14	28.—29. »	1540	0,87	0,057	6,48	0,010	
16	30.—31. »	1550	0,809	0,057	6,98	0,014	
18	1.— 2. IV.	1540	1,00	0,059	5,87	—	1,27
20	3.— 4. »	1550	0,848	0,051	6,05	0,011	
22	5.— 6. »	1560	0,899	0,046	5,14	0,012	
24	7.— 8. »	1560	0,859	0,047	5,50	0,010	
26	9.—10. »	1550	0,779	0,033	4,27	—	—
28	11.—12. »	1560	1,071	0,049	4,56	—	
30	13.—14. »	1570	1,189	0,057	4,75	—	
				0,046	4,53	—	

IV. Versuchsreihe.

Tagesmenge der Nahrung $\left\{ \begin{array}{l} 30 \text{ g Hafer} \\ 100 \text{ » Salat.} \end{array} \right.$

Am 17./V. wurden aus der rechten Carotis 31 ccm Blut entnommen.

Versuchs- tag	Datum	Körper- gewicht des Tieres g	Die Tagesmenge des Harnes enthielt				
			N g	Aminosäure-N			
				g		%	
1	12. V.	1630	0,828	0,028	0,029	3,43	3,54
3	14. »	1630	0,840	0,027		3,19	
4	15. »	1620	0,804	0,030	3,74		
5	16. »	1620	0,819	—	—		
6	17. »	1610	0,806	0,031	3,80		
7	18. »	1560	0,823	0,042	0,040	5,14	
8	19. »	1580	0,888	0,042		4,71	
9	20. »	1580	0,689	0,042		6,06	
11	22. »	1540	0,749	0,032		4,21	

Die bezüglich der Ausscheidung der Aminosäuren gewonnenen Zahlen bestätigen also auf experimentellem Wege die theoretische Überlegung, daß die Vergrößerung des Energiequotienten — wenigstens zum Teil — von der absoluten, sowie auch relativen Vermehrung der ausgeschiedenen Aminosäuren bzw. formoltitrierbaren Stoffen herrührt.