

Beiträge zur Kenntnis der Harnsäurebildung.

II. Mitteilung.¹⁾

Wiederbildung zerstörter Harnsäure in der künstlich durchbluteten Leber.

Von

Dr. C. Bezzola, Dr. G. Izar und Dr. L. Preti, Assistenten.

(Aus dem Institute für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der K. Universität Pavia:
Prof. M. Ascoli.)

(Der Redaktion zugegangen am 18. August 1909.)

Untersuchungen von G. Ascoli²⁾ stellten fest, daß bei der Durchströmung von überlebenden Hundelebern mit harnsäurehaltigem Blute eine wesentliche Verminderung des Harnsäurebestandes des Blutes erfolgt. Jacoby,³⁾ Wiener,⁴⁾ Schittenhelm,⁵⁾ Burian⁶⁾ lieferten den Beweis, daß auch Leberextrakte die Harnsäure, bei Anwesenheit von Sauerstoff, zu zerstören imstande sind. Vor kurzem zeigten nun M. Ascoli und Izar,¹⁾ daß Rinderleberbrei die Fähigkeit besitzt, zugesetzte und zerstörte Harnsäure wiederzubilden, wenn der zur Zerstörung erforderliche Sauerstoff entzogen wird. Auf Grund dieser Tatsachen haben wir uns die Frage vorgelegt, ob letztere Erscheinung sich auch im künstlichen Durchblutungsversuche wiederholt und bestätigt, d. h. ob auch in diesem unter geeigneten Bedingungen das Wiederauftreten zerstörter Harnsäure zu erzielen ist.

Das von uns angewandte technische Verfahren war folgendes:

Defibriniertes, mit Ringerscher Lösung verdünntes Hundeblood wurde mit einer bestimmten Menge in Lithiumcarbonatlösung (1 : 90) gelöster Harnsäure versetzt. Der Mischung wird zur Bestimmung der darin enthaltenen Harnsäure eine Probe von 250 ccm entnommen; der

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LVIII.

²⁾ Pflügers Arch. für Physiol., Bd. LXXII.

³⁾ Virchows Arch., Bd. CLVII.

⁴⁾ Arch. f. exper. Path., Bd. XLII.

⁵⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLV, XLVI, L.

⁶⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLIII.

Rest wird durch die Leber eines nach vorheriger Morphiuminjektion durch Entblutung getöteten Hundes geleitet. Die Leber wurde in situ belassen; nach Unterbindung der Bauchhohlvene wurde eine Glaskanüle an die Pfortader und eine zweite an die Brusthohlvene angesetzt. Vor Durchleitung der Mischung wurde die Leber sorgfältig mit Ringerscher Lösung ausgewaschen.

Die durchzuleitende Flüssigkeit wurde in einen Kolben von ca. 2 l Inhalt gebracht; dieser in ein Wasserbad bei 38° gesetzt, ein Meter hoch über der Ebene, wo der Hund lag. Der Kolben war durch einen vierfach durchbohrten Gummistöpsel verschlossen zur Aufnahme a) eines Thermometers, b) eines bis zum Boden des Gefäßes reichenden Trichters, c) eines kurzen und d) eines langen Glasrohres. Letzterer wird mittels eines 1½ m langen Gummischlauches mit der Pfortaderkanüle in Verbindung gesetzt. Sowohl während des Auswaschens als während der Durchblutung wurde der Eintritt von Luftblasen in die Lebergefäße peinlichst vermieden.

Die zweite an die Brusthohlvene angesetzte Kanüle setzte sich in einen Gummischlauch fort, der in einen in Wasserbad bei 38° tauchenden Kolben mündete: letzterer war 1 m unter der Ebene, in welcher der Hund aufgespannt war.

Die Zirkulation bestand aus zwei Perioden. In der ersten wurde die Flüssigkeit jedesmal, bevor sie vom unteren in den oberen Kolben geschüttet wurde, gelüftet (durch wiederholtes Umgießen von einem Gefäße ins andere); in der zweiten hingegen wurde die Flüssigkeit jedesmal mittels Durchleitung eines aus einer Bombe stammenden Kohlen säurestromes mit dieser gesättigt. Am Ende jeder Periode wurde eine doppelte Probe von je 250 ccm zur Bestimmung der Harnsäure entnommen.¹⁾

Nach Verdünnung der Proben mit zwei Volumina destillierten Wassers wurden dieselben zur Entfernung der gerinnbaren Eiweißstoffe mit verdünnter Essigsäure schwach angesäuert und gekocht. Nachdem beide Proben auf das Anfangsvolumen gebracht worden, wurden sie durch Papier filtriert. Die mit H₂O aufgenommenen Gerinnsel wurden auf das gleiche Volumen gebracht, bis zu schwach alkalischer Reaktion mit NaOH versetzt, erhitzt und nochmals bei schwach essigsaurer Reaktion koaguliert; sie wurden gleichfalls auf das Anfangsvolumen gebracht und filtriert. Dies wurde zweimal wiederholt. Schließlich wurde eine gleiche Menge (2 l oder mehr) der vereinigten Filtrate genommen und in dieser die Harnsäure nach Salkowski bestimmt.

¹⁾ Am Ende der I. Versuchsperiode erwies sich die Reaktion des zur Durchblutung benützten Blutes alkalisch; am Ende der II. Periode reagierte die Flüssigkeit schwach sauer. Der Einfluß der Reaktion auf die Wiederbildung der Harnsäure wird den Gegenstand einer weiteren Mitteilung bilden: hier sei nur bemerkt, daß sie nicht die Ursache der Harnsäurerückbildung darstellt.

In Vorversuch A überzeugten wir uns zunächst, daß Hundeleberbrei sich in bezug auf die Rückbildung zugesetzter und zerstörter Harnsäure ebenso verhält wie Rinderleberbrei, d. h. daß er sie bei Abschluß von Luft wiederbildet.

Versuch A.

100 g Hundeleberbrei + 1600 ccm 0,85%ige NaCl-Lösung + Toluol + Chloroform je 25 ccm; nach zweistündigem Schütteln im Schüttelapparat, Kolieren durch Gaze; Zusatz zur Kolatur von 250 ccm folgender Lösung: 1 g harnsaures Natrium gelöst in 20 ccm n.-NaOH, aufgefüllt auf, nach Bestimmung in den übrigen 50 ccm, 300 ccm mit aq. dest. (U-Gehalt der zugesetzten harnsaures Natrium-Lösung = 890 mg.) Dreitägige ständige Luftdurchleitung im Brutschrank bei 39°; darauf Teilung in zwei gleiche Portionen (a, b). Portion a sofort koaguliert enthält 91,46 mg Harnsäure; Portion b bleibt nach weiterem Zusätze von je 10 ccm Toluol und Chloroform weitere 3 Tage im Brutschrank im verschlossenen Gefäße; die darauf vorgenommene Bestimmung ergibt einen Harnsäuregehalt von 728,52 mg.

Versuch I.

Defibriertes Blut von zwei Hunden	1000 ccm
+ Ringersche Lösung	1000 "
+ ca. ¹⁾ 1 g harnsaures Na in Lithiumcarbonatlösung (1 : 90)	190 "
Am Ende der I. Zirkulationsperiode, Dauer 1 St. 15'	
Harnsäure ²⁾	370 mg
Nach der II. Zirkulationsperiode, Dauer 1 St. 15'	
Harnsäure	500 "

Versuch II.

Defibriertes Blut von drei Hunden	1500 ccm
+ Ringersche Lösung	1320 "
+ ca. 1 g harnsaures Na in Lithiumcarbonatlösung (1 : 90)	180 "
Vor der Zirkulation	Harnsäure 719,2 mg
Nach der I. Zirkulationsperiode, Dauer 1 St. 30'	
Harnsäure	{ 282 "
	{ 268 "
Nach der II. Zirkulationsperiode, Dauer 1 St. 30'	
Harnsäure	{ 480,84 "
	{ 522,96 "

¹⁾ Nicht zur Gewichtskonstanz getrocknet.

²⁾ Immer berechnet auf die Gesamtlüssigkeit.

Versuch III.

Defibriertes Blut von drei Hunden	1000 ccm
+ Ringersche Lösung	1820 „
+ ca. 2 g harnsaures Na in Lithiumcarbonat- lösung (1 : 90)	180 „
Vor der Zirkulation	Harnsäure 1602 mg
Nach der I. Zirkulationsperiode, Dauer 1 St.	Harnsäure { 1087 „
	{ 1072 „
Nach der II. Zirkulationsperiode, Dauer 1 St. 40'	Harnsäure { 1441 „
	{ 1384 „

Versuch IV.

Defibriertes Blut von drei Hunden	1250 ccm
+ Ringersche Lösung	1820 „
+ ca. 2 g harnsaures Na in Lithiumcarbonat- lösung (1 : 90)	180 „
Vor der Zirkulation	Harnsäure 1059 mg
Nach der I. Zirkulationsperiode, Dauer 1 St. 30'	Harnsäure { 240 „
	{ 272 „
Nach der II. Zirkulationsperiode, Dauer 1 St. 30'	Harnsäure { 938 „
	{ 991 „

Übersichtstabelle.

Versuchs- nummer	Harnsäuremenge mg						Zerstörte Harnsäure mg	Wiedergebildete Harnsäure mg	
	Vor der Zirkulation	Nach der I. Zirkulationsperiode			Nach der II. Zirkulationsperiode				
		Proben 1	2	Mittel- wert	Proben 1	2			Mittel- wert
1	—	370	—	370	500	—	500	—	130
2	719,2	282	268	275	480,84	522,96	501,4	444,2	226,4
3	1602	1087	1074	1080	1441	1384	1412	522	332
4	1509	240	272	256	938	991	964	1253	708

Die soeben erwähnten Versuche erforderten folgende Kontrollen:

1. Wird die Sättigung mit CO_2 unterlassen, so erfolgt keine Wiederbildung von Harnsäure, hingegen schreitet die Zerstörung weiter fort.

Versuch V.

Defibriniertes Blut von zwei Hunden	1500 ccm
+ Ringersche Lösung	1320 „
+ ca. 2 g harnsaurer Na in Lithiumcarbonatlösung (1:90)	180 „
Vor der Zirkulation	Harnsäure 1363 mg
Nach einstündiger künstlicher Zirkulation mit gelüfteter Flüssigkeit	Harnsäure { 644 mg 689 „
Nach einer weiteren Stunde fortgesetzter künstlicher Zirkulation mit gelüfteter Flüssigkeit	Harnsäure { 496 mg 424 „

2. Das defibrinierte Blut für sich allein ist nicht imstande, innerhalb der Versuchsdauer weder die in Betracht kommenden Mengen Harnsäure bei Luftdurchleitung zu zerstören, noch Harnsäure bei Durchleitung von Kohlensäure zu bilden.

Versuch VI.

Defibriniertes Blut eines Hundes	300 ccm
+ Ringersche Lösung	600 „
+ ca. 2 g harnsaurer Na in Lithiumcarbonatlösung (1:90)	180 „
Sofort	Harnsäure 1704 mg
Nach einstündiger Lüftung (Temp. 20°)	Harnsäure 1768 „
Nach weiterer einstündiger Durchleitung von Kohlensäure (Temp. 20°)	Harnsäure 1720 „

Versuch VII.

Defibriniertes Blut eines Hundes	250 ccm
+ Ringersche Lösung	1070 „
+ ca. 2 g harnsaurer Na in Lithiumcarbonatlösung (1:90)	180 „

Sofort	Harnsäure	1935	mg
Nach einstündiger Lüftung (Temp. 20°)	Harnsäure	2074	»
		2061	»
Nach weiterer einstündiger Durchleitung von CO ₂ (Temp. 20°)	Harnsäure	2058	»
		2045	»

* * *

Nachdem die erwähnten Einwände beseitigt waren, haben wir festzustellen versucht, ob die Wiederbildung der Harnsäure auch dann stattfindet, wenn das Blut einer anderen Tierart benutzt wird; es wurde daher der Versuch anstatt mit Hunde- mit Rinderblut wiederholt.¹⁾ Daß dies der Fall ist, zeigt folgender

Versuch VIII.

Defibriniertes Rinderblut		1100	ccm
+ Ringersche Lösung		1720	»
+ ca. 2 g harnsaurer Na in Lithiumcarbonat- lösung (1:90)		180	»
Vor der Zirkulation	Harnsäure	1717	mg
Nach der I. Zirkulationsperiode, Dauer 1 St. 20'	Harnsäure	909	»
		856	»
Nach der II. Zirkulationsperiode, Dauer 1 St.	Harnsäure	1587	»
		1541	»

Es lagen noch zwei Möglichkeiten vor: daß die Harnsäure vom Lebergewebe bei Anwesenheit von Sauerstoff einfach zurückgehalten und dann im zweiten Teile des Versuches durch die Wirkung der Kohlensäure wieder an das Blut abgegeben worden sei; oder aber daß die Kohlensäure die Bildung von Harnsäure in der Leber aus den Nucleoproteiden und Purinkörpern zuwege bringe und die gebildete Harnsäure dann in das Blut übergehe. Um den Wert dieser Hypothesen, die nicht viel Wahrscheinlichkeit besaßen, zu prüfen, führten wir folgenden Versuch mit gekreuzter Durchblutung aus:

¹⁾ Daß bei Durchströmung von Hundeleber mit harnsäurehaltigem Rinderblut Harnsäure zerstört wird, zeigte schon G. Ascoli (loc. cit.).

Einerseits durchströmten wir eine Stunde lang eine Hundeleber (A) mit gelüftetem und mit Harnsäure versetztem Rinderblute; nachdem die Harnsäure zum guten Teile aus dem Blute verschwunden war, wurde dasselbe, mit Kohlensäure gesättigt, durch die Leber eines anderen Hundes (B) hindurchgeleitet.

Andererseits wurde die Leber des ersten Hundes gleichzeitig mit einer anderen Portion desselben, mit Kohlensäure gesättigten, aber nicht mit Harnsäure versetzten Rinderblutes durchblutet.

Der Ausfall des Versuches (IX) war entscheidend: die frische Leber des zweiten Hundes bildete 525 mg Harnsäure; die Leber des ersten Hundes, die Harnsäure zerstört hatte, bildete nur 131 mg: daraus folgt, daß das Material, aus welchem die Harnsäure gebildet wird, im Blute, und nicht im Lebergewebe enthalten ist, und es fallen somit die angedeuteten Hypothesen.

Versuch IX.

Defibriniertes Rinderblut	1250 ccm
+ Ringersche Lösung	1570 „
+ ca. 2 g harnsaurer Na in Lithiumcarbonatlösung (1:90)	180 „
Vor der Zirkulation	Harnsäure 1508,64 mg
Nach einstündiger Durchleitung durch eine Hundeleber (A) (Lüftung)	Harnsäure 533,48 „
Nach einstündiger Durchleitung desselben Blutes durch eine zweite Hundeleber (B) (Sättigung mit Kohlensäure)	Harnsäure 1509,00 „

Durch die Leber A wird eine andere Probe (1250 ccm) desselben, in gleichem Verhältnisse mit Ringerscher Lösung verdünnten, Rinderblutes, ohne Harnsäurezusatz, aber mit Kohlensäuredurchleitung, 1 Stunde lang zirkulieren gelassen.¹⁾

Harnsäure 131,68 mg

¹⁾ Die ersten aus der Leber A in diesem zweiten Teile des Versuches ausströmenden 100 ccm Flüssigkeit wurden zu dem durch die Leber B durchströmenden Blute hinzugesetzt; die folgenden 100 ccm wurden absichtlich weggeworfen.

Schlußsätze.

Es wird bestätigt, daß bei Durchblutung von Hundeleber mit harnsäurehaltigem, arterialisiertem Blute eine beträchtliche Abnahme der demselben zugesetzten Harnsäure stattfindet.

Es wird gezeigt, daß bei der Durchströmung von Hundeleber mit demselben, aber mit Kohlensäure gesättigtem Blute die verschwundene Harnsäure wieder zum Vorschein kommt.
