Zur Kenntnis der Harnsäure-Umwandlung im Tier- und Menschenkörper.

Von

Dr. med. **Alfred C. Croftan**, Chicago.

Einleitung.

Dass die Harnsäure, Tieren (Hunden, Katzen, Kaninchen) eingegeben, nur zum kleinen Teile im Harne ausgeschieden wird, dass ferner gewissen tierischen Organauszügen die Eigenschaft zukommt, Harnsäure zu zerstören, ist bekannt.

Zum Überflusse füge ich noch einige Tierprotokolle aus eigener Erfahrung bei, die gleichzeitig beweisen sollen, dass intravenös beigebrachte Harnsäure nicht im Tierkörper zurückgehalten wird, noch etwa wieder durch den Darm ausgeschieden wird, sondern tatsächlich in kürzester Frist eine Umwandlung in andere harnfähige Produkte erleidet. Die Technik, die ich zur Durchflutung des Tierkörpers mit Harnsäure angewandt habe, sei deshalb detailliert angegeben, weil sie eine geeignete Methodik darstellt, um den intermediären Stoffwechsel beliebiger anderer Substanzen zu studieren.

Methodik. Die stündliche Harnausscheidung beim Kaninchen ist gering und beträgt selten mehr als 5—7 ccm. Der Harn ist gewöhnlich sehr konzentriert und enthält reichlich Phosphate. Von einer quantitativen Sammlung solcher kleinen Mengen dicken Harnes kann also wohl kaum die Rede sein; benutzt man Harnkäfige, so ist bedeutender Verlust und Verunreinigung gar nicht zu vermeiden; Katheterisieren führt ebensowenig zum Ziele, denn in der Blase bleibt immer etwas Harn zurück. Bei den kleinen stündlichen Harnmengen und den verhältnismässig geringen Mengen Harnsäure, die zu Durchblutungsversuchen verwandt werden können, werden des weiteren relativ kleine Harnsäure-, scil. Harnverluste, absolut recht bedeutend. Es musste also die Diurese um ein bedeutendes gesteigert und der Harn quantitativ gesammelt werden, wollte man diese Fehlerquellen vermeiden und über die Harnsäureverluste

in der Passage durch den Tierkörper Aufschluss erhalten. Die folgende Technik hat sich in meinen Händen als recht bequem und als durchaus zuverlässig erwiesen.

Aus einer graduierten Bürette wurde zunächst zur Anregung der Diurese eine warme harntreibende Salzlösung in die linke Vena jugularis externa eingeflösst. Als eine besonders aktive diuretische Lösung erwies sich die folgende (angegeben von Dr. S. A. Matthews):

$\frac{m}{s}$ NaCl		50 ccm
$\frac{m}{24}$ Na-Citrat		25 ccm
$\frac{m}{4}$ Na ₂ SO ₄		23 ccm
$\frac{m}{s}$ CaCl ₂		2 ccm
		<hr/> 100 ccm.

Die 100 ccm wurden in langsamem Tempo (ca. 2 ccm per Minute) einlaufen gelassen, und nachdem, nach Ablauf etwa einer Stunde, eine kräftige Diurese angeregt worden war (siehe Tabelle I), weitere 100 ccm Salzlösung, die eine abgewogene Menge Harnsäure, durch möglichst wenig Natriumkarbonat in Lösung gebracht, enthielten, im selben Tempo einlaufen gelassen; schliesslich wurden dann weitere 200 ccm zum „Nachspülen“ eingeflösst. Der ganze Versuch dauert demnach etwa 4 Stunden. Harnsäure strömt während einer Stunde ein.

Um den Harn quantitativ zu sammeln, wurde eine suprapubische Cystotomie ausgeführt und der vor Beginn der Einflössung in der Blase enthaltene Urin zunächst entfernt und weggeworfen. Alsdann wurde eine Heberkanüle in solcher Weise in die Blasenöffnung eingebunden, dass deren freier etwa 5 cm langer Schenkel auf der Symphysis pubis des auf den Rücken gebundenen Tieres ruhte und über einer kleinen Porzellanschale mündete, die zwischen die Hinterbeine des Tieres gestellt war.

Der Harn wurde in vier Portionen aufgefangen, nämlich:

Portion I: Harn, der während des Einfließens der ersten 100 ccm Salzlösung ausfloss.

Portion II: Harn, der während des Einfließens der zweiten 100 ccm Salzlösung, die Harnsäure enthaltend, ausgeschieden wurde.

Portion III und Portion IV: Harn, der während des Einlaufens der dritten und vierten 100 ccm der Salzlösung ausfloss.

Nach Abschluss des Experimentes wurde das Tier durch Verbluten aus der Carotis getötet, die Blase nach Unterbindung der Ureteren und der Urethra mit samt der eingebundenen Kanüle

herausseziert und mehrmals mit Wasser ausgespült; diese Waschwasser wurden später mit Portion IV (vide supra) zusammen analysiert.

In jeder Portion wurde nun die Harnsäure bestimmt. Es wurden ausserdem in einer Versuchsreihe in jeder Portion Bestimmungen des Gesamtstickstoffes vorgenommen. Es erwies sich hierbei, dass jedesmal viel mehr Stickstoff ausgeschieden wurde, als der Menge des eingeführten Harnstoffes entsprach, so dass der Schluss gerechtfertigt erschien, dass durch die reichliche Diurese N-Schlacken aller Art ausgespült wurden. Schlüsse in bezug auf die Umwandlung der eingeführten Harnsäure in andere N-haltige harnfähige Produkte liessen sich also leider bei dieser Versuchsanordnung nicht aus den erhaltenen Ziffern ziehen. Es wurden aus diesem Grunde auch Gesamtstickstoffbestimmungen in allen anderen Versuchsserien als zwecklos nicht ausgeführt.

Die untenstehende Tabelle I gibt also nur die Harnsäureverluste an. In der einen Rubrik sind die Mengen der eingeflossenen Harnsäure angegeben; dann für jede Portion die Harnmenge (man beachte die enorme Diurese!) und die Harnsäuremenge, dann die gesamten Harn- und Harnsäuremengen für alle vier Portionen zusammen und schliesslich die Harnsäureverluste für jedes der vier Versuchstiere sowohl in Grammen als prozentisch.

Tabelle I.

Tier Nr.	Harnsäure eingeflösst	H a r n								Gesamte Harnmenge	Gesamte Harnsäuremenge	Harnsäure- Verlust in	
		Portion I		Portion II		Portion III		Portion IV					
		Harn	Harn- säure	Harn	Harn- säure	Harn	Harn- säure	Harn	Harn- säure				
1	g	ccm	g	ccm	g	ccm	g	ccm	g	ccm	g	g	%
1	0,26	130	—	129	0,034	97	0,003	104	—	460	0,037	0,233	83,9
2	0,37	127	—	112	0,040	102	0,001	114	—	455	0,041	0,329	85,8
3	0,52	117	Spur	138	0,079	88	0,011	98	—	441	0,090	0,430	88,9
4	0,46	135	—	109	0,069	112	0,004	141	—	497	0,073	0,387	82,7

In zwei Serien wurden dann noch Blut und Organe und Magendarminhalt, nach Stadthagen, auf Harnsäure untersucht, und zwar in zwei Portionen. In einer Portion wurde nach Unterbindung des Rektums dicht über dem Anus, des Ösophagus, möglichst hoch oben, und des Gallen- und Pankreasganges der ganze Magendarminhalt mitsamt Inhalt auf Harnsäure verarbeitet. In einer zweiten Portion

wurden Blut, Leber, Milz, Pankreasfetzen, Nieren, Herz, Lungen, Gehirn und ein grosser Teil des Muskel- und Hautgewebes auf Harnsäure untersucht. Es liess sich in keiner der beiden Versuchsserien auch nur eine Spur Harnsäure aus Magendarminhalt, Blut, Organen, Geweben wiedergewinnen!

Es wurden also bei der oben angewandten Methodik zwischen 82,7 und 88,9% der eingeflössten Harnsäure binnen kurzer Zeit, i. e. innerhalb von 2 Stunden beim Passieren des Kaninchenkörpers zerstört, scil. in andere N-haltige Körper umgewandelt.

Beim Menschen liegen die Verhältnisse keineswegs so klar wie beim Tiere. In allen Versuchen die bisher angestellt worden sind, handelte es sich um Einverleibung von Harnsäure per os, und Ibrahim und Soetbeer haben durch Bestimmungen, die offenbar einwandfrei sind (Zeitschr. f. Physiol. Chemie Bd. 35 Heft 1), nachgewiesen, dass „per os eingeführte Harnsäure sicher zum grössten Teile nicht resorbiert wird“. Diese Autoren sprechen zugleich auf Grund ihrer Untersuchungen die berechtigte Meinung aus, „dass es nicht gelingen wird, das Schicksal der zirkulierenden Harnsäure durch Aufnahme von Harnsäurelösungen zu eruieren“. Auf diesem Wege daher, d. h. durch Fütterungsversuche, gelangt man offenbar nicht zum Ziele.

Die experimentelle Darreichung von Harnsäurelösungen intravenös ist natürlich beim Menschen kaum ausführbar, denn diese Operation ist sogar bei Tieren keineswegs ohne Gefahr; gingen doch mehrere meiner Kaninchen während der Einspritzungen unter heftigstem Zittern und Krämpfen zugrunde. Dies geschieht regelmässig, wenn man nicht genug Natriumkarbonat zu den Harnsäurelösungen hinzufügt, um das Auskristallisieren der Harnsäure zu verhindern, selbst wenn die Lösungen bedeutend abgekühlt sind; scheiden sich solche Kristalle aus, so kommt es wahrscheinlich zu Embolien im Zentral-Nervensystem auf die die obigen letalen, nervösen Erscheinungen wohl zurückzuführen sind.

Subkutane Injektion von Harnsäure ist beim Menschen wohl auch kaum angebracht, denn Einverleibung von Harnsäure auf solche Art ist zunächst gewöhnlich äusserst schmerzhaft, wie ich aus eigener Erfahrung bestätigen kann, und ausserdem wohl auch nicht ganz harmlos; ausserdem gelänge es auf diesem Wege doch nur verhältnismässig recht kleine Mengen von Harnsäure einzugeben; und,

schliesslich wäre die Zurückhaltung der Harnsäure in den dichten subkutanen Geweben niemals auszuschliessen.

Es liegen beim Menschen auch schon deshalb die Verhältnisse wesentlich anders als z. B. beim Kaninchen, beim Hunde oder bei Katzen, weil bei letzteren Tieren nach Harnsäureeinverleibung ganz charakteristische Abbauprodukte der Harnsäure (z. B. Glykokoll, scil. Hippursäure, Allantoin usw.) im Harne erscheinen, während beim Menschen nach Eingabe von Harnsäure keine eindeutig als Abbauprodukte der Harnsäure charakterisierte Substanzen im Harne erhalten worden sind. Es bleibt demnach zur Lösung der Frage nur die Untersuchung der Harnsäure zerstörenden Kraft menschlicher Organe und Gewebe übrig.

Nimmt man nun *a priori* an, dass der menschliche Organismus sich tatsächlich wie der Tierkörper verhält und imstande ist, zirkulierende Harnsäure zu zerstören, so müssen die folgenden drei Fragen beantwortet werden:

1. Wo, d. h. in welchen Organen oder Geweben, wird die Harnsäure zerstört?
2. Wie wird die Harnsäure zerstört?
3. Was wird aus der Harnsäure?

Wo wird die Harnsäure zerstört?

Zur Methodik. Das Arbeiten mit Organauszügen und wässrigem Organbrei ist umständlich und niemals exakt. Die Gegenwart grösserer Mengen von Eiweissstoffen und gewisser anderer Körper hindert die Harnsäurefällung, so dass es immer nötig ist, durch langwierige Manipulationen, die wohl immer zu Verlust von etwas Harnsäure führen, diese störenden Körper los zu werden. Es gelingt jedenfalls nie, mehr als 90—95 % der zugesetzten und sofort bestimmten Harnsäure selbst bei äusserst exaktem Arbeiten wiederzugewinnen. Beim Stehen für längere Zeit bei Bluttemperatur erleiden die Auszüge nun ferner ausgiebige Autolyse, so dass nach etlicher Zeit ganz andere, aber ebenfalls störende Körper als ursprünglich im Organbrei oder wässrigem Extrakte zugegen waren, vorhanden sind. Die Fehlerquelle ist also noch dazu zu verschiedenen Zeiten in diesen Experimenten verschieden, wenn man nämlich die Harnsäure zur Kontrolle zunächst im frischen Brei oder Extrakt und später im Brei oder Extrakt, der einige Zeit im Brutofen gestanden hat, bestimmt.

Es scheint nämlich, dass die durch Autolyse gebildeten Albumosen usw. die Harnsäure nicht so energisch festhalten (scil. die Harnsäurefällung nicht so stark behindern) als die ursprünglich vorhandenen Eiweisskörper. So gelingt es oft tatsächlich, von Harnsäure, die zu autolytisch zersetzten Organauszügen zugesetzt und sofort bestimmt wird, mehr (i. e. bis zu 98%) wiederzugewinnen, als von Harnsäure, die zu frischen Organauszügen zugesetzt wird und ebenfalls sofort bestimmt wird (vide supra 90—95%). Dieses Plus ist nun nicht etwa auf frisch gebildete Harnsäure zu rechnen, denn die geringe Menge der letzteren lässt sich, wie aus Tabelle II ersichtlich, mit Leichtigkeit in Kontrollen bestimmen und in Abrechnung ziehen.

Die Grösse dieser wichtigen und bisher, soweit ich weiss, bei Arbeiten mit Organauszügen nicht berücksichtigten Fehlerquelle ist aus untenstehender Tabelle II ersichtlich.

Tabelle II.

500 gm Rindsleber mit 500 ccm Wasser 1 St. ausgezogen und koliert	Vorgebildete Harnsäure g	Harnsäure zugesetzt g	Harnsäure sofort nach Zusatz bestimmt	
			in Gramm	in Prozent der zugesetzten Harnsäure
Frisch	—	0,4	0,362	90,5
Frisch	—	0,4	0,371	92,75
Nach 24 St. bei 37,5° C.	0,012	0,4	0,402	97,5
			— 0,012	
			0,390	
Nach 24 St. bei 37,5° C.	0,008	0,4	0,399	98,0
			— 0,008	
			0,392	

Noch eine zweite grosse Fehlerquelle muss bei der oben angedeuteten Bildung von Harnsäure beim Stehen von Auszügen verschiedener Organe bei Körpertemperatur mit in Rechnung gezogen werden. Denn es ist ja bekannt, dass einige Organe Substanzen enthalten, aus denen mit Leichtigkeit autolytisch Harnsäure entsteht, während andere wenig oder gar nichts von solchen Vorbildern enthalten; dass solche Substanzen bei der vergleichenden Bestimmung der Harnsäure zerstörenden Kraft verschiedener Organe äusserst störend wirken müssen, liegt klar auf der Hand. Denn die Differenz zwischen zugesetzter und nach längerer Zeit wiedergewonnener Harnsäure stellt unter diesen Umständen nicht den absoluten Harnsäure-

verlust dar, sondern vielmehr nur die algebraische Summe zwischen zerstörter und neugebildeter Harnsäure. Will man exakte und zuverlässige Resultate erhalten, so muss die Grösse der Harnsäurebildung durch Kontrollversuche, wie in Tabelle II, bestimmt und später bei der Berechnung in Abzug gebracht werden. Geschieht dies nicht, so müssen etwaige Unterschiede, die sich bei verschiedenen Tierklassen in bezug auf die Harnsäure zerstörende Kraft einzelner Organe ergeben, mit einiger Reserve angenommen werden. Sagt doch Wiener, der wohl als erster auf diese Unterschiede hingewiesen hat, konservativerweise, dass vielleicht in denjenigen Organen, in denen sich keine Harnsäurezerstörung nachweisen lässt, möglicherweise solche Zerstörung doch stattfindet, aber durch die Neubildung von Harnsäure verdeckt wird.

Will man nun diese beiden Fehlerquellen vermeiden, so handelt es sich darum, Organauszüge darzustellen, die erstens möglichst wenig von Eiweiss und von anderen die Harnsäurefällung verhindernden Substanzen enthalten, die zweitens keine oder möglichst wenig von Substanzen enthalten, die autolytisch in Harnsäure umgewandelt werden können, die aber drittens das Harnsäure zerstörende Agens noch unbeschadet und in möglichst grosser Menge beherbergen.

Ein Extrakt, das allen diesen Anforderungen gerecht wird, lässt sich aus den Organen darstellen, nachdem sie mit Alkohol und Äther vorbehandelt worden sind.

Erstens nämlich koaguliert der Alkohol die meisten störenden Eiweisskörper, die sich in den Organen befinden, und verwandelt sie in Modifikationen, die nachher nicht in den verdünnten Salzlösungen, die vorteilhaft zur Extraktion verwandt werden, löslich sind. Der Alkohol schlägt zwar zugleich die albumoseartigen, fermentähnlichen Substanzen, die, wie ich weiter unten zeigen werde, die Harnsäurezerstörung grösstenteils bewerkstelligen, ebenfalls nieder; der Kontakt mit Alkohol macht diese Körper jedoch nicht nachträglich in verdünnten Salzlösungen unlöslich; folglich können diese aktiven Substanzen leicht aus dem Alkoholkoagulat extrahiert werden, während andere störende Eiweisskörper zum grössten Teile zurückbleiben.

Zweitens gelingt es scheinbar durch die Alkoholbehandlung den Organbreien gerade die Substanzen zu entziehen, die zur autolytischen Harnsäurebildung führen. Hierauf macht Wiener in seiner

vorzüglichen Arbeit aufmerksam, denn er sagt: „Aus diesen Versuchen geht also mit Bestimmtheit hervor, dass die Leber des Rindes aus einem in ihr enthaltenen in Alkohol sicher löslichen Körper Harnsäure zu bilden imstande ist.“ Im Koagulat bleiben jedenfalls bestimmt nach der Extraktion mit Alkohol keine weiteren zur Harnsäurebildung fähigen Substanzen zurück; denn es gelang mir nie, in wässrigen (scil. verdünnten, salzigen) Auszügen von Alkoholkoagulaten der Rinderleber oder irgendwelcher anderer Organe eine Harnsäurebildung zu konstatieren, während das in frischen wässrigen Auszügen nicht mit Alkohol koagulierter Rinderleber jedesmal mit Leichtigkeit gelingt. Setzt man des weiteren diejenigen Substanzen, die aus einem bestimmten, (e. g., Leber-) Quantum mittelst Alkohol ausgezogen werden können, nach Abdunsten des Alkohols bei niederer Temperatur der gleichen Menge frischen Rindsleberauszuges hinzu, so wird die Harnsäurebildung in letzterem dadurch um ein bedeutendes vermehrt.

Drittens hat die Vorbehandlung mit Alkohol noch den grossen Vorzug, dass die Organe durch Alkoholextraktion gerade von jenen Körpern befreit werden, die sich aus der Harnsäure, wie wir unten sehen werden, bilden (i. e. Harnstoff, Oxalsäure); denn diese Körper sind in Alkohol verhältnismässig leicht löslich. Dies vereinfacht um ein bedeutendes die im dritten Abschnitt: „Was wird aus der Harnsäure?“ zu beschreibenden Arbeiten.

Es wurden die Organe also nach möglichst gründlicher Entfernung von Blut in der Fleischmühle zu einem feinen Brei zermahlen und der Brei sofort in etwa fünf Gewichtsteilen Alkohol von 95% Stärke aufgefangen, dann mit samt dem Alkohol zur feineren Zerkleinerung und um innigsten Kontakt mit dem Alkohol zu ermöglichen, durch die Fleischmühle laufen gelassen, und schliesslich 6 Stunden lang unter Alkohol bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Es wurde dann der Alkohol abfiltriert, das zurückbleibende Koagulat mehrere Male mit Alkohol, Alkoholäther und schliesslich Äther ausgewaschen, auf Filtrierpapier ausgebreitet und an der Luft getrocknet. Das trockene Residuum wurde alsdann zu einem feinen Pulver zerrieben und der grösste Teil des faserigen Bindegewebes durch Absieben entfernt. Das Präparat stellt ein hellbraunes krümeliges Pulver dar.

Zur Extraktion wurde eine Normal-Chlornatriumlösung, der zur Verhinderung der Fäulnis 2 pro Mille Fluornatrium zugesetzt wurden,

benutzt. Zu je 20 g des Pulvers wurden 150 ccm der Salzlösung benutzt; die Extraktion fand während 12 Stunden im Brutschrank unter häufigem Umschütteln statt. Nach dem Abfiltrieren des Extraktes und Ausdrücken des Rückstandes erhielt man etwa 120 ccm Extrakt. Zu jedem Versuche wurden genau 100 ccm des so erhaltenen Extraktes benutzt.

Mischt man nun solche Auszüge mit Harnsäure- (scil. Urat-) Lösungen und lässt sie während 48 Stunden, zur grösseren Sicherheit unter Zusatz von etwas Thymol, im Brutschranke bei 37,5° C stehen, so erfolgt bei allen diesbezüglich untersuchten Organen eine Harnsäurezerstörung. Es zeigen sich jedoch bedeutende quantitative Unterschiede sowohl in bezug auf dasselbe Organ bei verschiedenen Tieren als auf die verschiedenen Organe bei demselben Tiere, die vollständig mit denen von andren Autoren, besonders von Wiener und Jakoby, mitgeteilten übereinstimmen. Dieser Umstand, nämlich dass sich wässrige Auszüge von frischen Organen genau so in bezug auf die Harnsäurezerstörung verhalten wie wässrige Auszüge, die aus Organen dargestellt sind, welche vorerst mit Alkohol koaguliert wurden, scheint zu beweisen, dass die Alkoholkoagulation, wie oben gefordert, das Harnsäure zerstörende Etwas nicht untätig macht, und dass das Alkoholkoagulat und die frischen Organe jenes Etwas in identischer Form, wenigstens was seine Wirkung betrifft (und darauf kommt es ja bei dieser Methodik hauptsächlich an) enthalten! Zur Beantwortung der drei Fragen, die in dieser Arbeit zu lösen sind, eignen sich solche Alkoholkoagulate also durchaus.

Zur Erklärung der Tabelle III, aus der die Harnsäure zerstörende Kraft von Leber, Milz, Nieren, Blut und Muskel bei Hund, Katze, Rind, Kaninchen, Schwein und Mensch übersichtlich dargestellt ist, mögen folgende Bemerkungen gelten:

Um etwaige Zerstörung von Harnsäure durch Luftwirkung (Oxydation) in alkalischer Lösung oder durch Bakterienwirkung (trotz der Gegenwart von NaFl und Thymol) auszuschliessen, wurde durchweg mit Kontrollen gearbeitet. Dies ist ja schon deshalb die einzige zuverlässige Methode, um gültige Werte zum Vergleiche zu erhalten, weil es, wie anfangs ausführlich auseinandergesetzt, nie gelingt, mehr als 90% und im günstigsten Falle 98% der zugesetzten Harnsäure wiederzugewinnen. Arbeitet man jedoch mit Kontrollen die genau so wie die Versuchskolben verarbeitet werden, so sind

Tabelle III.

Klasse	Tierart	Organ 20 g plus 150 g Aq., filtriert, 100 ccm Extrakt	Kolben I. Harnsäure sofort bestimmt	Kolben II. Gekocht 48 h bei 37,5° C	Kolben III. Nicht gekocht, 48 h bei 37,5° C	Harnsäureverlust in Prozent
			Harnsäure in Gramm	Harnsäure in Gramm	Harnsäureverlust in Gramm	
Carni- vora	Hund	Leber	0,327	0,325	0,325	31,1
		Niere	0,319	0,319	0,312	2,4
		Muskel	0,330	0,326	0,303	8,2
		Blut	0,331	0,317	0,313	2,5
	Katze	Milz	0,327	0,320	0,319	2,4
		Leber	0,331	0,326	0,319	0,008
		Niere	0,327	0,326	0,329	28,0
		Muskel	0,316	0,310	0,318	0,009
		Blut	0,316	0,314	0,091	2,6
		Milz	0,332	0,328	0,305	7,8
Herbi- vora	Kuh	Leber	0,331	0,327	0,322	0,006
		Niere	0,321	0,316	0,322	0,009
		Muskel	0,327	0,321	0,236	2,7
		Milz	0,313	0,309	0,305	26,4
	Kanin- chen	Leber	0,314	0,309	0,306	6,8
		Niere	0,316	0,314	0,306	2,1
		Muskel	0,331	0,324	0,239	0,008
		Blut	0,324	0,322	0,311	2,6
		Milz	0,321	0,317	0,317	24,3
			0,332	0,317	0,020	6,0
Omni- vora	Schwein	Leber	0,332	0,326	0,314	2,2
		Niere	0,326	0,321	0,238	0,007
		Muskel	0,318	0,317	0,247	28,2
		Milz	0,331	0,324	0,299	0,079
	Mensch	Leber	0,319	0,314	0,325	0,019
		Niere	0,327	0,325	0,325	0,008
		Muskel	0,322	0,319	0,200	2,4
		Milz	0,332	0,324	0,188	0,119
		Blut	0,326	0,320	0,299	0,139
					0,325	42,6

alle etwaigen Fehlerquellen in beiden Portionen dieselben und neutralisieren sich daher.

Es wurde daher eine Harnsäure- (scil. Urat-)Lösung in solcher Weise dargestellt, dass Harnsäure in heissem Wasser suspendiert wurde und dann so lange gepulvertes Natriumkarbonat hinzugefügt wurde, bis die Harnsäure gelöst war und sich beim Abkühlen keine Harnsäurekristalle mehr ausschieden. Es wurde in allen Versuchen so viel Harnsäure aufgeschwemmt, dass auf 1 Liter Wasser etwa 1 g kam; es wurden dann von dieser Lösung 300 ccm (enthaltend etwa 0,3 g Harnsäure) in drei Kolben verteilt und zu jeder Portion 100 ccm des Organextraktes (vide supra) hinzugefügt.

In Kolben I wurde die Harnsäure sofort bestimmt. Kolben II wurde auf eine Minute zum Sieden erhitzt und dann während 48 Stunden bei $37,5^{\circ}\text{C}$ im Brutschranke unter häufigem Umschütteln stehen gelassen. Kolben III wurde ohne vorheriges Kochen bei derselben Temperatur und während derselben Zeit ebenfalls unter Umschütteln stehen gelassen. Es wurden dann die minimalen Mengen Eiweiss, die in jeder Portion vorhanden waren, nach Ludwig entfernt und die Harnsäure nach der Ludwig'schen Methode bestimmt.

Auf diese Weise, und wohl nur auf diese Weise, liessen sich alle obenerwähnten Fehlerquellen ausschalten, und liess es sich zugleich feststellen, welchen Einfluss die Siedetemperatur auf das harnsaure zerstörende Agens, das in den Organextrakten vorhanden sein sollte, ausübte. Es ist aus dieser Tabelle III ersichtlich, dass allen diesbezüglich untersuchten tierischen und menschlichen Organen ein gewisses Harnsäure zerstörendes Vermögen zukommt. Es ergibt sich ferner, dass Kochen diese Zerstörung zum grössten Teile (v. infra) verhindert.

Es erhellt des weiteren aus dieser Tabelle, dass, wie Wiener und Jacoby (Virchow's Archiv Bd. 157) zuerst gezeigt haben, zwischen den Organen von Fleischfressern und von Pflanzenfressern gewisse Unterschiede bestehen. Während nämlich bei Hund und Katze der Leber ein weit grösseres Harnsäure zerstörendes Vermögen zukommt als der Niere, ist das Umgekehrte bei Rind und Kaninchen der Fall. Phylogenetisch lassen sich diese Unterschiede am besten nach Kionka's geistreicher Theorie erklären.

Ein karnivores Tier nämlich frisst grosse Mengen Harnsäure enthaltenden Materials auf einmal, in langen Zwischenräumen, während ein pflanzenfressendes Tier kleine Mengen Materials in

kurzen Zwischenräumen frisst, das recht wenig Harnsäure oder Harnsäure formender Substanzen enthält. Bei Karnivoren besteht daher immer die Gefahr einer Überschwemmung der Gewebsflüssigkeiten und des Blutes mit Harnsäure und deren toxischen chemischen Verwandten, i. e. Alloxur-Basen; dieser Gefahr beugt die Leber durch ihre grosse Kraft, Harnsäure umzuwandeln, vor; bei Herbivoren werden keine so grossen Ansprüche an diese Funktion in der Leber gestellt, folglich wird die Harnsäurezerstörung von anderen Organen teilweise übernommen. Die Harnsäurezerstörungsarbeit ist bei den verschiedenen Spezies wohl etwa dieselbe, sie ist nur anders über verschiedene Organe verteilt. Bei Omnivoren, wie z. B. beim Menschen, ist diese Arbeit, wie wir sehen werden, viel gleichmässiger zwischen Leber und Niere verteilt wie bei Karnivoren oder bei Herbivoren, so dass der Mensch in dieser Beziehung eine intermediäre Stellung einnimmt. Diese chemischen Unterschiede könnte man am Ende zur Lösung von Evolutionsfragen im Tierreiche verwenden.

Bei Vielfressern wie dem Schwein und dem Menschen besitzen sowohl die Leber als die Nieren nicht unbedeutendes Harnsäure zerstörendes Vermögen. Während beim Schwein jedoch die Harnsäure zerstörende Kraft der Leber die der Nieren übertrifft, ist das Umgekehrte beim Menschen der Fall.

Bei allen Tieren können die Muskeln ziemlich bedeutende Mengen Harnsäure zerstören. Dem Blute und der Milz wohnt diese Kraft nur in verhältnismässig geringem Grade bei. Zwar zerstören diese Gewebe kleine Mengen von Harnsäure; man findet aber, dass dieselbe Zerstörung auch stattfindet, nachdem die Organauszüge gekocht worden sind (Kolben II); da nun gekochte Leber-, Nieren- und Muskelextrakte auch etwas Harnsäure zerstören, so muss man entweder annehmen, dass alle Organe neben einem „Fermente“, das durch Hitze zerstört wird, ein Harnsäure zerstörendes Agens enthalten, das hitzebeständig ist, also keinen eigentlichen Fermentcharakter, sensu strictiori, besitzt, oder dass die kleinen Verluste auf technische Manipulationsfehler zurückzuführen sind; in letzterem Falle müsste man dem Blute und der Milz jegliche Harnsäurezerstörungskraft absprechen. Ich bin mehr geneigt der ersteren Erklärung Gültigkeit zuzuschreiben.

Die Tabelle III gibt uns nur Aufschluss über das relative Harnsäurezerstörungsvermögen gleicher Gewichtsteile verschiedener Organe

in den verschiedenen Tieren. Will man sich ein klares Urteil verschaffen über das relative Harnsäurezerstörungsvermögen verschiedener Organe bei demselben Tiere, oder desselben Organes in verschiedenen Tieren, so muss man in ersterem Falle die Masse des betreffenden Organes im Vergleiche zur Masse des Gesamtthieres, im zweiten Falle das absolute Gewicht des betreffenden Organes in verschiedenen Tieren mit in Rechnung ziehen. Finden wir z. B. in der Tabelle, dass beim Hunde ein gewisses Gewicht Muskelkoagulates 8,2 % Harnsäure zerstört, während dasselbe Gewicht Leber 31,1 % Harnsäure zerstört, so kann man zwar sagen, dass, Gewicht für Gewicht, der Leber ein grösseres Harnsäurezerstörungsvermögen zukommt als dem Muskelgewebe; bedenken wir jedoch, wieviel mehr Muskel- als Lebergewebe im Hundekörper vorhanden ist, und vergleichen wir die gesamte Muskelmasse, so finden wir, dass die Muskeln in toto offenbar ein grösseres Harnsäurezerstörungsvermögen besitzen als die Leber. Was den zweiten Punkt betrifft, so muss man stets bedenken, dass viele Kaninchennieren z. B. erst so viel wiegen wie eine Kuhniere. Alle solche Berechnungen können jedoch nur, im besten Falle, schätzungsweise geschehen.

Versuchen wir eine solche Schätzung beim Menschen, der uns am meisten interessiert, so finden wir, dass die Menschenleber, Gewicht für Gewicht, ein grösseres Harnsäurezerstörungsvermögen besitzt als die Leber irgendeines anderen Tieres, und dass die Menschenniere nicht nur ein grösseres Harnsäurezerstörungsvermögen besitzt als die Menschenleber, sondern auch ein bei weitem grösseres als die Niere irgendeines anderen Tieres, dass den Muskeln des Menschen nach Gewicht ein geringeres Harnsäurezerstörungsvermögen beiwohnt als der Leber und den Nieren, absolut jedoch, auf die gesamte Körpermuskulatur geschätzt, ein ebenso grosses oder gar noch grösseres.

Demnach besitzen die Muskeln des Menschen grössere Harnsäure zerstörende Kraft als irgendein anderes untersuchtes Gewebe. Die Harnsäure zerstörende Kraft des Menschenblutes ist wohl äusserst gering, und diese Kraft scheint noch relativ geringer, wenn man bedenkt, wie grosse Mengen Blutes erforderlich sind, um die nötigen 20 g Koagulat zu erhalten. Die Harnsäure zerstörende Kraft der Menschenmilz ist ebenfalls als äusserst klein anzuschlagen.

Wie wird die Harnsäure zerstört?

Es liess sich a priori annehmen, dass die Harnsäurezerstörung durch Organextrakte einen Oxydationsprozess darstellte; denn alle bisher als spezifische Abbauprodukte der Harnsäure identifizierte Körper wie Hippursäure (scil. Glykokoll), Allantoin, Oxalsäure, Harnstoff stellen Substanzen dar, die höher oxydiert sind als Harnsäure. Dass es sich also um die Wirkung von Oxydationsfermenten bei der Harnsäureumwandlung handelte, schien recht wahrscheinlich. Diese womöglich zu identifizieren und den feineren intermediären Mechanismus der Harnsäurezerstörung aufzuklären, war daher die nächste Aufgabe.

Das wässrige Extrakt aller durch Alkohol, wie oben, koagulierter Organe besitzt, wie bekannt, in ausgesprochenem Grade die Eigenschaft, H_2O_2 zu zerlegen. Fällt man solche wässrige Auszüge mit dem 5—10fachen Volumen Alkohol, so bildet sich ein feinflockiger weisser Niederschlag, der exquisit katalytisch wirkt. In destillirtem Wasser ist dieser Niederschlag nur zum allerkleinsten Teile löslich, leicht dagegen löslich in frischen Portionen von wässrigem Organokoagulatauszug oder in Filtraten solcher Auszüge nach Ausfällen des Niederschlages und Abdunsten des Alkohols. In verdünnten Alkalien ist der Niederschlag ebenfalls löslich. Diese Löslichkeitsverhältnisse des Niederschlages, seine energische katalytische Kraft, der Umstand, dass er Phosphor und Eisen enthielt, liessen an das von Spitzer so gründlich untersuchte „Nukleoproteid“ der Organe denken. Um dieses in grösserer Menge aus den wässrigen Extrakten der Alkokolkoagulate darzustellen, wurde nun mit $\frac{1}{10}$ n. Schwefelsäure gefällt, der flockige Niederschlag wieder in verdünnter Sodalösung aufgelöst und zum zweiten Male durch vorsichtiges Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure gefällt.

Dieser Niederschlag wurde nun auf Harnsäure zerstörende Kraft untersucht. Zu diesem Zwecke wurde eine grössere Menge in verdünnter Sodalösung aufgelöst, Harnsäure-(Urat-)Lösung hinzugefügt und das Gemisch unter Zusatz von Thymol während 48 Stunden bei Bruttemperatur stehen gelassen. Bei wiederholten Versuchen liess sich nie Harnsäurezerstörung feststellen. Um die Möglichkeit zu grosser Alkaleszenz, die, wie Jacoby gezeigt hat, die Harnsäurezerstörung hindern kann, auszuschliessen, wurde eine Lösung obigen Niederschlages in einer frischen Portion Organextraktes, deren Harn-

säurezerstörungskraft durch Kochen zerstört worden war (vide supra), dargestellt, wieder mit fast neutraler Uratlösung gemischt und bei Bruttemperatur stehen gelassen. Wieder liess sich keine Spur Harnsäurezerstörung nachweisen. Das energisch katalytisch wirkende „Nukleoproteid“ ist also nicht das Harnsäure zerstörende Ferment.

Das Ferment wurde alsdann in der vom Nukleoproteid abfiltrierten, schwach sauren Lösung gesucht. Diese enthält in der Tat noch geringe Mengen Substanz, die Eiweissreaktionen gibt, und die sich nach Fällungsreaktionen, Biuretreaktion usw. als Albumose charakterisieren lässt. Um diesen Eiweisskörper zu erhalten, wurde das von Nukleoproteid durch verdünnte Säure befreite, wässrige Organextrakt vorsichtig neutralisiert und mit dem 5—10fachen Volumen Alkohol gefällt. Es bildet sich eine geringe Menge eines äusserst feinflockigen weisslich-gelben Niederschlages, der so leicht ist, dass er erst nach tagelangem Stehen allmählich zu Boden fällt und sich gar nicht filtrieren lässt. Er wurde daher durch Zentrifugieren und wiederholtes Auswaschen mit verdünntem Alkohol isoliert und gereinigt. Diese Substanz enthält keine Spur von Eisen oder Phosphor und zersetzt H_2O_2 gar nicht. In Wasser gelöst und mit fast neutraler Uratlösung gemischt konnte er bei Bruttemperatur selbst bei tagelangem Stehen keine Spur Harnsäure zerstören. Dieser albumoseartige Körper (scil. dieses nukleoproteidfreie Gemisch von Eiweisskörpern?) enthielt also auch nicht das Harnsäure zerstörende Ferment.

Da nun das ursprüngliche Extrakt (z. B. aus Leber) energisch Harnsäure zerstören konnte, da aber weder das „Nukleoproteid“ noch die „Albumose“ einzeln die Harnsäure zerstören konnten, so musste man natürlich daran denken, dass vielleicht die Kombination der zwei Körper nötig sei, um Harnsäurezerstörung zu bewirken. Um diese Hypothese zu prüfen, wurde der Versuch gemacht, das ursprüngliche Extrakt durch Vereinigung einer Portion des „Nukleoproteids“, einer Portion der „Albumose“ (beide wie oben dargestellt) und der Salze, die sich in den ursprünglichen Extrakten voranden, wiederherzustellen. Man trennt also zuerst durch Säurefällung das Nukleoproteid ab und reinigt es; man fällt dann aus dem Filtrate durch Alkohol die zurückbleibenden albumoseartigen Körper ab; man zerstört durch Kochen in der zurückbleibenden Salz- usw. Lösung irgendeine etwaig noch vorhandene aktive (scil.

Harnsäure zerstörende Substanz) und löst dann die beiden abgetrennten Eiweisskörper in jener Salzlösung. Dieses rekonstruierte Extrakt besitzt nun wieder recht energische Harnsäure zerstörende Kraft!

Das Harnsäure zerstörende Etwas in den wässrigen aus durch Alkohol koagulierten Organen extrahierten Lösungen ist demnach aus drei Teilen zusammengesetzt, i. e. besteht aus:

1. einem energisch katalytisch wirkenden „Nukleoprotein“,
2. einem H_2O_2 nicht zersetzenden, albumoseähnlichen Körper,
3. einer Lösung von Salzen, die das Nukleoprotein in Lösung halten.

Einzeln vermögen weder „Nukleoprotein“ noch „Albumose“ die Harnsäure zu zerstören; zusammen besitzen sie dieses Vermögen. Die „spezifische“ Substanz ist hier offenbar die Albumose, denn das katalytische Nukleoprotein findet sich ja fast allgemein verbreitet und ist in vielen Organen vorhanden, die quasi gar keine Harnsäure zerstörende Kraft besitzen.

Die Gegenwart gewisser Salze ist zur Lösung des Nukleoproteides durchaus nötig. Dies erhellt aus folgenden Versuchen. Extrahiert man eine bestimmte Menge durch Alkohol koagulierter Leber, e. g., mit destilliertem Wasser, so geht eine bestimmte Menge katalytischen Nukleoproteides in Lösung. Der Rückstand bleibt jedoch noch energisch katalytisch. Durch destilliertes Wasser lässt sich nun aber trotzdem keine Spur Nukleoprotein mehr ausziehen. Zerstört man jedoch in der ersten Extraktion durch Kochen die katalytische Wirkung und filtriert die geronnenen Eiweisskörper ab, und benützt man diese klare, inaktive Lösung zu einer zweiten Extraktion des Rückstandes, so lässt sich mit Leichtigkeit eine weitere Menge katalytisch wirkenden Nukleoproteides in Lösung bringen. Diesen Prozess kann man viele Male wiederholen, bis schliesslich der Rückstand nur noch ganz schwach katalytisch wirkt. Es ist mir nie, selbst nach sehr vielen Extraktionen, gelungen, dem Rückstande die katalytische Kraft gänzlich zu entziehen. Ob es sich hier ausschliesslich um Lösungsverhältnisse handelt, oder ob etwa eine hypothetische „Aktivierung“ einer in den Koagulaten vorhandenen Substanz durch die wässrigen Auszüge stattfindet, bleibt noch dahingestellt. Etwas Spezifisches kann dies jedoch wohl kaum sein, denn ganz ähnliches lässt sich durch verdünnte Sodalösungen bewerkstelligen. Ich glaube es handelt sich nur um Lösung.

Ohne weiter auf Hypothesen einzugehen, imponiert mir der ganze Prozess so dass die „Albumose“ in spezifischer Weise die Affinitäten des Harnsäuremoleküls löst, und zwar in solcher Weise, dass sie nun der intrazellulären Oxydation leicht anheimfallen. Es ist möglich, dass die Katalase der Sauerstoffübertragung behilflich ist. Auf diesen Punkt hier einzugehen, würde mich zu weit führen.¹⁾

Was wird aus der Harnsäure?

Bei Hunden finden sich spezifische Abbauprodukte der Harnsäure nach Eingabe oder Infusion der letzteren Allantoin- und Oxalsäure; auch ist eine Zunahme des Harnstoffes bemerkt worden, die auf Rechnung zerstörter Harnsäure gesetzt worden ist. Fütterungsversuche beim Menschen führen leider nicht zu so einförmigen Resultaten, und da das Experiment hier *in vivo* sowieso von grossen Schwierigkeiten begleitet ist, so schien die einfachste Lösung der Frage: „Was wird aus der Harnsäure beim Menschen“ durch Versuche mit Organextrakten erreichbar zu sein.

Leider führte dieser Weg aber auch zu recht dürftigen Resultaten. Naturgemäss wurde zuerst nach Körpern gesucht, die in tierischen Organen sicher aus Harnsäure entstehen, also Allantoin, Oxalsäure, Harnsäure, Hippursäure, Glykokoll. Man muss hier wieder durchweg mit Kontrollen arbeiten; denn alle Organe enthalten etwas Harnstoff, und in einigen Organen wird bekanntlich beim Stehen Harnstoff gebildet; auch musste man an die Bildung von Oxalsäure aus anderen Stoffen als der Harnsäure (z. B. Glykuronsäure, P. Meyer) denken. Es wurden also Organextrakte, die nach der oben beschriebenen Methode dargestellt worden waren, mit Uratlösung gemischt, 48 Stunden lang bei Bruttemperatur stehen gelassen und zur Kontrolle Kolben benutzt, zu denen keine Uratlösung hinzugesetzt worden war; es wurde ebenfalls mit gekochten Lösungen gearbeitet, die Uratlösung enthielten.

Bei den fast durchweg negativen Resultaten, die bei dieser Arbeitsmethode leider erhalten wurden, ist es wohl kaum der Mühe wert, die voluminösen Protokolle abzudrucken. Was von einigem Werte gefunden wurde, lässt sich in den folgenden Sätzen kurz ausdrücken:

1) Ich verweise diesbezüglich auf eine Arbeit über „Langsame Oxydationen im Tierkörper“ die baldigst erscheinen wird.

Allantoin, aufgesucht nach der Methode von Loewi, konnte niemals, selbst in Spuren, in den Organen gefunden werden, deren Extrakte recht energisch Harnsäure zerstörten.

Eine geringe Vermehrung der Oxalsäure und des Harnstoffes konnte beim Arbeiten mit menschlicher Niere konstatiert werden.

Eine nicht unbedeutende Harnstoffvermehrung, aber keine Bildung (scil. Vermehrung) der Oxalsäure liess sich bei Menschenleber feststellen.

Die geringe Menge dieser Körper, die gefunden wurde, entsprach lange nicht der Menge zerstörter Harnsäure. Will man also recht bedeutende Verluste an Harnstoff und Oxalsäure nicht ausschliesslich auf technische Fehlerquellen beziehen, so muss man entweder annehmen, dass die Harnsäure in andere bisher nicht erkannte Stoffe umgewandelt wird, oder dass die Oxalsäure und der Harnstoff nur intermediäre Produkte sind, die bei dieser Arbeitsmethode quasi in statu nascendi in kleiner Menge erwischt wurden. Dasselbe kann man vom Allantoin sagen; möglich dass es doch bei der Umwandlung der Harnsäure durch Menschenorgane entsteht, dass es aber schnell weiter oxydiert wird und in den kleinen Mengen, in denen es jedesmal vorhanden ist, eben nicht isoliert und identifiziert werden konnte. Die Antwort auf die Frage: „Was wird aus der Harnsäure?“ ist also noch nicht gelöst.