II.

Arbeiten aus dem Laboratorium für experimentelle Pharmakologie
zu Strassburg.

89. Ueber das Functionsvermögen der künstlich durchbluteten Niere.

Von

Dr. C. Jacoby,

Assistent des Instituts,

und Dr. W. v. Sobieranski,

z. Z. Assistent am pharmakologischen Institut zu Marburg.

(Mit 2 Abbildungen.)

Der von mir beschriebene Durchblutungsapparat ¹⁾, den ich Hä-
matisator nennen will, hat den Zweck, die Lebensvorgänge an iso-
lirten, überlebenden Organen zu studiren. An keinem Organ konnte
derselbe auf seine Brauchbarkeit so sicher geprüft werden, als an
der Niere, da schon bei den geringsten Störungen der Circulations-
verhältnisse dieselbe ihre Function ändert oder ganz einstellt. Ich
machte es mir daher in den nachfolgenden Versuchen zur Aufgabe,
die Lebensvorgänge einer derartig durchbluteten Niere zu untersuchen
und namentlich festzustellen, ob dieselbe unter diesen Umständen
ein Secret zu liefern im Stande sei, welches als Harn aufgefasst wer-
den darf. Zur Entscheidung der ersten Frage wurde das Verhalten
des normalen lebenden Nierengewebes dem indigschwefelsauren und
carminsauren Natrium gegenüber herangezogen.

Heidenhain ²⁾ hat bekanntlich gezeigt, dass, wenn man einem
Thiere indigschwefelsaure Natronlösung injicirt, der Farbstoff durch
die Nieren unverändert ausgeschieden wird, dabei aber ausschliess-
lich eine Färbung der Epithelien der Tubuli contorti, so-
wie der breiten Henle'schen Schleifen bewirkt, während die Glo-
meruli, sowie das gesammte übrige Gewebe der Niere farblos bleiben,

1) Archiv f. exp. Path. u. Pharm. XXVI. Bd. S. 388.

2) Archiv f. Physiologie. IX. Bd. S. 1 ff.; Archiv f. mikroskopische Anatomie.
X. Bd. S. 1; Physiologie von Hermann. V. Bd. S. 345.

obgleich das ausgeschiedene Indigo im Lumen der Harnkanälchen von den Tubuli contorti bis in den Ureter sich in krystallinischer oder amorpher Form niedergeschlagen findet. Chrzonszczewski¹⁾ und Wittich²⁾ beobachteten aber, dass das carminsaure Ammon nach intravenöser Injection bei seinem Durchtritt aus dem Blut in die Harnwege im Gegensatz zum Indigo ausschliesslich die Gefässknäule der Glomeruli färbte, dagegen das übrige Gewebe völlig farblos lasse. Da nun die sämtlichen Zellen eines todtten Gewebes ohne Unterschied, sobald sie in Berührung mit einem dieser beiden Farbstoffe kommen, sich diffus färben, so ist in diesen Farbstoffinjectionen ein Mittel gegeben, an den künstlich durchbluteten Nieren die lebenden Gewebe von den abgestorbenen zu unterscheiden.

Blumberg³⁾, welcher unter der Leitung von Kobert in Dorpat an isolirten, nach der alten Methode durchbluteten Nieren die Wirkungen verschiedener Gifte auf die betreffenden Gewebe durch mikroskopische Untersuchung der letzteren festzustellen sich bemühte, hat bereits mittelst der Indigo- und Carminfärbung ein Bild von ihrem Lebenszustand zu gewinnen versucht. Er gelangte dabei aber zu dem offenbar auch ihm selbst unerwarteten Resultat, dass sich die gesammten künstlich durchbluteten Gewebe durch indigschwefelsaures Natron diffus blaugrün, durch Carmin diffus roth färbten, und dass daher von einem auch nur annähernd normalen Leben und Functioniren ihrer Zellen keine Rede sein könne. Bei seinen an lebenden Thieren angestellten Controlversuchen fielen dagegen die Färbungen durchgängig so aus, wie sie Heidenhain, Wittich und Chrzonszczewski beschreiben.

Diese Ergebnisse Blumberg's hielten uns nicht ab, die gleichen Versuche sowohl mit meinem Apparat, als auch nach der alten Durchblutungsmethode zu wiederholen, da es einerseits nahe lag anzunehmen, der Umstand, dass Blumberg offenbar die Farbstoffe gleich bei Beginn des Versuches dem Blute zugesetzt hatte, sei mit schuld an der diffusen Färbung, und andererseits zu hoffen war, dass unter den ungleich günstigeren Circulationsbedingungen, welche der Hämatistor herstellt, eine bessere Ernährung der Gewebe und damit zugleich eine der normalen entsprechendere Färbung mit Hülfe des neuen Verfahrens zu erzielen sei.

1) Virchow's Archiv. 31. Bd. S. 187 und 35. Bd. S. 158.

2) Archiv f. mikr. Anat. XI. Bd. S. 77.

3) Ueber die vitalen Eigenschaften isolirter Organe. Inaug.-Diss. von J. Blumberg. Dorpat 1889.

Da ich mich selbst bisher mit den Färbungs- und mikroskopischen Untersuchungsmethoden nicht eingehender beschäftigt hatte, Dr. v. Sobieranski aber, welcher gerade in unserem Institut arbeitete, das Jahr zuvor im Laboratorium von Ludwig in Leipzig eingehende Untersuchungen über die Secretion und das Verhalten der in Frage kommenden Farbstoffe in der lebenden Niere angestellt hatte und infolge dessen mit den Methoden wohl vertraut war, so bat ich denselben, sich an meinen Versuchen zu betheiligen, worauf er auch bereitwilligst einging. Die nachfolgend mitgetheilten Durchblutungen sind deshalb von uns gemeinsam ausgeführt worden. Controlversuche mit Farbstoffinjectionen am lebenden Thiere vorzunehmen erschien unnöthig, da Dr. v. Sobieranski, wie erwähnt, schon in Leipzig zahlreiche derartige Versuche angestellt hatte, welche er demnächst zu veröffentlichen beabsichtigt.

Es ergaben dieselben im Wesentlichen die gleichen Resultate, wie sie bereits, soweit es sich um die Färbung mit indigschwefelsaurem Natron handelt, von Heidenhain genau beschrieben sind. Nur konnte v. Sobieranski wiederholt eine schwache Blaufärbung einzelner Glomeruli constatiren. Hinsichtlich der Carminfärbung stimmten seine Ergebnisse mit denen Chrzonszczewski's und Wittich's überein.

Ehe ich zur Beschreibung unserer Durchblutungen übergehe, muss ich noch einiger kleiner Veränderungen Erwähnung thun, welche ich an dem Hämatisator, behufs Vervollkommnung desselben, angebracht habe.

Da der kleine, mir zur Verfügung stehende Wassermotor seine Bewegung, je nach dem Wasserdruck, gelegentlich in sehr erheblicher Weise änderte, das Princip des Apparates in der Form, in welcher ich denselben beschrieben habe, aber eine durchaus gleichmässige Triebkraft voraussetzt, so entstanden häufig Störungen in der Circulation und in der Vertheilung des Druckes im Apparat, infolge deren mehrere Versuche fehl schlugen. Ich kehrte deshalb wieder zu einer früheren Form der Anordnung zurück, die zwar etwas complicirter ist, dafür aber derartige Störungen völlig ausschliesst. Ich führte nämlich das aus der Vene abfliessende Blut (vgl. l. c. S. 391) und die den Kaliapparat passirt habende Luft nicht direct in die das Blut nach dem Reservoir treibende Herzpumpe A zurück, sondern schaltete vor letzterer einen zweiten Pumpballon (A_2) mit ebenfalls 2 Ventilen derart ein, dass derselbe seinen Inhalt hinter dem Ventil a_2 direct in den Ballon (A_1) entleeren konnte. Dieser zweite Ballon (A_2) wurde in den hinteren Winkel der Doppelwippe, wie sie die jener Arbeit beigegebene Photolithographie zeigt, gebracht. Auf diese Weise wurde er jedesmal in dem Augenblick comprimirt, in welchem der Ballon (A_1) sich erweiterte. Während der Compression von A_1 aber saugte A_2 das Blut aus der Vene an. Durch diese Anordnung konnte ein Ueberschuss an negativem Druck in dem Ballon A_2 und der das venöse Blut aus dem Organ abführenden Leitung erzeugt werden, welcher vorübergehende Störungen in der Bewegung des Wassermotors unschädlich machte. Um aber unter diesen Bedingungen den Druck in der Vene des Organs stets auf Null zu erhalten, brachte ich hinter der Ein-

trittsstelle der Luftcirculation in das venöse System, also an der Stelle, wo sich auf der schematischen Zeichnung hinter *J* die beiden Pfeile befinden, ein durch den Aussendruck der Luft sich regulirendes Ventil an. Dasselbe besteht aus zwei 3 cm langen, 1 cm breiten dünnen Gummilamellen, die platt aufeinanderliegend an ihren Längsseiten vereinigt sind, auf den Querseiten aber je in einen kleinen Schlauch enden, wie sie Fig. 1 im horizontalen, Fig. 2 im verticalen Querschnitt zeigt. Es ist klar, dass, sobald der Druck bei *a* unter Null sinkt, die beiden Lamellen

Fig. I. *Fig. II.*

durch den Luftdruck aufeinandergepresst werden und ein weiteres Ansaugen von *b* aus verhindern; sobald aber der Druck bei *b* auch nur um ein Geringes über Null steigt, wird der die Platten zusammenpressende Luftdruck überwunden, und die Flüssigkeit tritt nach *a* durch. Auf diese Weise ist ein abnormer Druck in der Vene des Organs sowohl

nach der positiven, wie nach der negativen Seite verhindert, und eine manuelle Regulirung, wie sie am Apparat bisher nöthig war, ist überflüssig geworden. Hat man jetzt die Circulation einmal in Gang gesetzt und die Pulsschwankung sowie die Temperatur regulirt, so kann der Apparat, sofern das Organ nicht blutet, ohne besondere Aufsicht längere Zeit sich selbst überlassen werden; es wird, selbst wenn sich die Durchflussgeschwindigkeit durch das Organ ändert, oder der Motor einmal langsamer oder schneller läuft, eine Störung in der Circulation nicht mehr eintreten können.

Unsere Versuche wurden ausschliesslich an frischen Hundenieren in folgender Weise ausgeführt. Aus einer in die Carotis des Thieres eingeführten Canüle liessen wir die zum Füllen des Apparates erforderliche Blutmenge (meist 300—400 ccm) ausfliessen, klemmten das Gefäss wieder ab und stellten mit dem aufgefangenen, gut defibrinirten und colirten unverdünnten Blute den Apparat zur Aufnahme des Organs völlig fertig. Sodann entzogen wir dem Thiere von Neuem so viel Blut, bis es völlig bewusstlos war. Jetzt wurde die Bauchhöhle durch einen Schnitt in der Linea alba geöffnet, bei noch erhaltener Circulation die Niere durch Massenligaturen mit der Fettkapsel von der Umgebung getrennt, die Arterie und Vene präparirt, die zum Abbinden der centralen Gefässenden und zum Einbinden der Canülen nöthigen Ligaturen vorbereitet, sowie der Ureter mit einer Canüle versehen. War dies Alles geschehen, so liessen wir das Thier entweder schnell völlig verbluten,

oder es wurden bei noch erhaltenem Leben, nach centraler Unterbindung der Nierengefäße, in das periphere Ende derselben die Canülen eingebunden, die der Arterie mit Blut gefüllt und nun schnell die Niere völlig losgetrennt und in den Apparat eingeschaltet. Bei dieser Art des Verfahrens gelang es, die Zeit der Stromunterbrechung gegenüber den Versuchen von Munk¹⁾, sowie Blumberg (l. c.) noch um 5—10 Minuten herabzusetzen. Im Apparat durchströmte sofort ein absolut arterialisirtes Blut das Organ, welches sehr schnell seine normale Farbe und Consistenz wieder annahm.

Zur Färbung der Nieren wurde indigschwefelsaures oder carminsaures Natrium angewandt. Ersteres war von Maschka, letzteres von Sobieranski selbst hergestellt und hat, dem bisher zu diesen Zwecken benutzten carminsauren Ammon gegenüber, den Vortheil, dass es von den allen Ammonsalzen zukommenden Nebenwirkungen frei ist.

Nach den durch Sobieranski gemachten Erfahrungen eignen sich zur Selbstfärbung der Gewebe am besten die auf folgende Weise dargestellten Lösungen.

1. Indigschwefelsaure Natriumlösung. Es werden 0,2 g Indigcarmin in 150 ccm destillirtem Wasser gelöst und der filtrirten Lösung 50 ccm einer 0,7 proc. Kochsalzlösung zugesetzt. Die Mischung wird einmal aufgeköcht, filtrirt und von derselben dann zu je 200 ccm Blut 25 ccm zugesetzt.

2. Carminlösung²⁾. 0,1 g carminsaures Natrium wird in 100 ccm einer 0,6 proc. Kochsalzlösung gelöst, dieselbe filtrirt und etwa 25 ccm derselben auf 400 ccm Blut zugesetzt.

Ogleich beide Lösungen in dieser Form beinahe keine Blutdruckerniedrigung am lebenden Thiere ausüben, so erschien es doch rathsamer, dieselben erst unmittelbar vor dem Schluss der Durchblutung dem Blute beizumengen. Einmal bekam man auf diese Weise ein klareres Bild über das Leben und die Function der Gewebe während der gesammten Zeitdauer des Versuches, zum Anderen musste, wie schon angedeutet, daran gedacht werden, dass, wenn man die künstliche Circulation sogleich mit einem Blut einleite, das schon mit Farbstoff versetzt ist, dies Nachtheile für die Erholung der Gewebe bedingen könne. Hatten wir das die betreffenden Farbstoffe enthaltende Blut einige Zeit circuliren lassen, so wurde die Durchblutung abgebrochen und unter mässigem Drucke von der Arterie aus die Niere mit absolutem Alkohol, dem nach Carminfärbung eine Spur Essigsäure zu-

1) Virchow's Archiv. 107. Bd. S. 295 ff.

2) Die so hergestellten Farbstofflösungen zeigten unter dem Mikroskop keine sichtbaren Farbstoffkörner.

gesetzt war, durchspült. Die von verschiedenen Theilen des Organs entnommenen 1—2 mm dicken Schnitte wurden sofort in 99 proc., auf 40°—50° erwärmten Alkohol gebracht, welcher nach Verlauf von 1 bis 2 Stunden noch einmal durch frischen concentrirten Alkohol ersetzt wurde. In letzterem verblieben dann die Gewebe 3—4 Tage zur weiteren Härtung. Um die gehärteten Stücke zum Schneiden mit dem Mikrotom vorzubereiten, wurden dieselben in Celloidin eingebettet.

Versuche.

Um zu erfahren, ob das Gewebe der Niere überhaupt noch unter den Bedingungen der künstlichen Circulation sein Leben zu erhalten im Stande sei, wurde zunächst der in dem folgenden Protokoll wiedergegebene Versuch nicht über eine halbe Stunde ausgedehnt.

Versuch I.

Einem Hunde, 12 Kilo schwer, wurden

11 h. 10 m. 500 ccm. Blut für den Apparat entnommen.

11 h. 30 m. wurden bei bis dahin erhaltener Circulation die Nierengefäße abgebunden, die Canülen eingeführt und

11 h. 35 m. die künstliche Circulation wieder eröffnet. Temperatur des Blutes 35°, des Organs 37°; Druck 100—120 mm Quecksilber; Durchflussgeschwindigkeit 100 ccm Blut in 2—3 Minuten.

11 h. 38 m. Das Organ sieht wieder völlig normal aus.

In die Ureterencanülen gelangt keine Flüssigkeit.

12 h. 5 m. Es werden dem Blute 50 ccm indigschwefelsaures Natron zugesetzt.

12 h. 15 m. wird die Niere aus dem Apparat genommen, mit Alkohol durchspült, und für die mikroskopische Untersuchung die nöthigen Schnitte entnommen.

Die mikroskopische Untersuchung ergab Folgendes: Die Structur der Gewebe ist durchweg gut erhalten. Die Glomeruli sind der Mehrzahl nach farblos, nur bei einigen wenigen findet man schwache Färbung der Zellkerne. Die Epithelien der Tubuli contorti, sowie eines Theiles der Henle'schen Schleifen hingegen zeigen bei ganz schwacher bläulicher Färbung des Protoplasmas sehr intensiv gefärbte Kerne. Das gesammte übrige Gewebe ist völlig farbstofffrei, doch sieht man im Lumen der gewundenen, wie der geraden Harnkanälchen und bisweilen auch in den Sammelröhren körnige, stellenweise krystallinische, Indigcarminmassen liegen. Diffuse Färbung ist nirgends zu finden.

Das mikroskopische Bild entspricht also demjenigen, welches Heidenhain bei seinen Versuchen an lebenden Thieren fand, wenn die Absonderung des Wassers durch die Glomeruli infolge Durchschneidung des Halsmarks verhindert war. Bei der kurzen Dauer unserer Durchblutung konnte aber das Ausbleiben der Wasserausscheidung durch die Glomeruli nicht auffallen, da die Versuche Over-

beck's¹⁾ bekanntlich gezeigt haben, dass selbst im lebenden Thiere, wenn die Circulation in der Niere durch Compression der Arterie auch nur $1\frac{1}{2}$ Minuten unterbrochen wird, für die nächste Zeit, selbst bis $\frac{3}{4}$ Stunde, die Secretion ausbleibt.

Wie schon erwähnt, konnte auch v. Sobieranski bei seinen Thiersversuchen gelegentlich eine schwache Färbung der Glomeruli constatiren, so dass dieselbe wohl auch in unserem Falle als eine in den Grenzen des Normalen liegende Erscheinung aufzufassen ist.

Aus dem mikroskopischen Befunde geht also hervor, dass die gesammten nicht gefärbten Gewebe und also auch wohl die Glomeruli am Ende der halbstündigen Durchblutung gelebt haben, sowie dass die Epithelien der Tubuli contorti ihre secernirende Thätigkeit wieder aufgenommen hatten. Da indessen durch die Färbung mit Indigcarmin nicht ohne Weiteres entschieden werden kann, ob auch die sämmtlichen Zellen der Tubuli contorti und Henle'schen Schleifen lebten, weil sich dieselben ebensowohl infolge ihres Absterbens, wie ihrer secretorischen Thätigkeit wegen gefärbt haben konnten, so wurde in einem weiteren Versuch geprüft, ob die isolirten Nieren nach Carminzusatz zum Blute ebenfalls die charakteristische Färbung der Glomeruli bei farbstofffreien Tubuli contorti und sonst farblosem Gewebe zeigen würden. Dass dies in der That der Fall ist, geht hervor aus dem

Versuch II.

Einem Hunde, 8 Kilo schwer, werden

10 h. 10 m. 300 ccm Blut entnommen, der Apparat gefüllt und, nachdem die Niere präparirt ist, von

10 h. 30 m. bis 10 h. 40 m. das Thier völlig verbluten gelassen.

10 h. 40 m. Es werden die Canülen eingeführt.

10 h. 45 m. Die Circulation im Apparat wieder eröffnet bei einem Druck von 140—150 mm Quecksilber und einer Temperatur des Blutes von 37° , des Organs von 38° . Die Durchflussgeschwindigkeit beträgt:

11 h. 50 m. 100 in 10 Minuten,

12 h. — m. 100 in 5 Minuten,

12 h. 20 m. 100 in 4 Minuten. Dann bleibt dieselbe constant.

1 h. 45 m. Es werden 40 ccm Carminlösung dem Blute zugesetzt.

2 h. 5 m. wird die Niere aus dem Apparat genommen und mit absolutem, angesäuerten Alkohol durchspült.

Die mikroskopische Untersuchung ergibt: Die Gefässknäule der Glomeruli sind intensiv roth gefärbt, ohne dass jedoch entschieden werden kann, ob der Farbstoff in den Gefässen, auf ihrer Aussenseite oder in der Wandung liegt. Eine Kernfärbung ist nicht nachzuweisen. Ausser

1) 6. Sitzungsbericht der Wiener Akad. Math-phys. Kl. LXVII. S. 189f. 1863.

den Glomerulis zeigt das gesammte übrige Gewebe der Niere eine natürliche Färbung. An mehreren Stellen der Rinde findet sich in dem Capillarnetz, in welches sich die Vasa efferentia der Glomeruli auflösen, Farbstoff niedergeschlagen, ohne indessen die Zellen der Umgebung gefärbt zu haben. Im Lumen zahlreicher Harnkanälchen findet man Farbstoff angehäuft.

Ein in der gleichen Weise angestellter weiterer Versuch führte zu genau dem gleichen Resultat.

Da die gewonnenen mikroskopischen Bilder demnach durchaus denen entsprechen, welche am lebenden Thiere von Wittich und Chrzonszczewski und jüngst wieder von Sobieranski erhalten wurden, so geht aus unseren Versuchen hervor, dass, wie den Glomerulis, so auch den Zellen der Tubuli contorti bei der angewandten künstlichen Durchblutung ihre Lebenseigenschaften erhalten bleiben.

Der folgende Versuch wurde angestellt, um zu erfahren, ob die Zellen, welche das Indigcarmin zur Ausscheidung bringen, auch in der künstlich durchbluteten Niere im Stande sind, nachdem sie sich mit dem Farbstoff aus dem Blute beladen haben, denselben in kürzerer Zeit wieder vollständig in das Lumen der Kanälchen zu befördern und sich dabei zu entfärben, falls ihnen mit dem Blute neuer Farbstoff nicht wieder zugeführt wird. Um bei diesem Versuch die Ausscheidung zu begünstigen, wurde dem Durchleitungsblute Harnstoff zugesetzt, wodurch, wie bekannt, auch an der isolirten und künstlich durchbluteten Niere ein vermehrtes Uebergehen von Flüssigkeit aus dem Blute in die Harnwege bewirkt wird.

Die sonstige Anordnung und den Verlauf des Versuches giebt das folgende Protokoll.

Versuch III.

Einem Hunde von 18 Kilo werden 500 ccm Blut entzogen.

11 h. 20 m. wird das Thier verblutet und die Niere herausgenommen,

11 h. 35 m. die Circulation im Apparat wieder eröffnet.

Zeit	Durchleitungsdruck in mm Quecksilber	Temperatur		Durchfluss- geschwindig- keit von 100 ccm Blut	Ureterenflüssigkeit
		der Niere	des Blutes		
11 h 40 m	120—130	37°	36°	2 Min.	1 Tropfen in 1—2 Min., gelb, neutral. 1,6 ccm enthalten Spuren von Eiweiss.
11 h 50 m	120—130	37°	36°	100 Sec.	
12 h 30 m	120—130	37°	37°	64 "	
1 h — m	0,4 g Harnstoff in 10 ccm $\frac{1}{2}$ proc. Kochsalzlösung dem Blute zugesetzt.				
1 h 5 m	120—130	37°	37°	50 Sec.	2—3 Tropf. p. Min.
1 h 10 m	120—150	37°	37°	50 "	4 " " "
1 h 12 m	140—150	37°	37°	34 "	5 " " "
1 h 15 m	140—150	37°	37°	34 "	15 " " "

} schwach
alkal., etw.
röthlich.

1 h. 20 m. Aus einem dem Hauptreservoir parallel in den Blutstrom eingeschalteten Nebenreservoir wird ohne Unterbrechung der Circulation und unter sonst ganz gleichen Bedingungen eine Mischung von 100 ccm Blut mit 25 ccm Indigcarminlösung durch die Niere strömen gelassen, das aus der Vene abfließende Blut wurde nicht zurück in den Apparat, sondern nach aussen abgeleitet. Die Niere erscheint sofort intensiv blau.

1 h. 23 m. Ureterenflüssigkeit blau gefärbt.

1 h. 30 m. Das Nebenreservoir wird ausgeschaltet und aus dem Hauptreservoir wieder normales, indigcarminfreies Blut in die Niere eingeleitet. Das Venenblut wird nach aussen abfließen gelassen, bis

1 h. 35 m. kein Indigcarmin mehr in demselben wahrzunehmen war, worauf die normale Circulation im Apparat wieder hergestellt wurde.

1 h. 38 m. | 140—150 | 37° | 36° | 40 Sec. | 5 Tropfen blau gefärbt.

2 h. — m. | 140—150 | 37° | 36° | 40 Sec. | 5 Tropfen blau gefärbt.

2 h. 5 m. Es wird der Versuch abgebrochen.

Mikroskopische Untersuchung. Die sämtlichen Zellen der Tubuli contorti sind ganz schwach bläulich gefärbt. Das übrige Gewebe zeigt den normalen, gelblichen Ton; nirgends eine Kernfärbung wahrzunehmen; dagegen findet sich der Farbstoff im Lumen zahlreicher Harnkanälchen in reichlicher Menge abgelagert.

Dieser Befund stimmt nach Angabe v. Sobieranski's hinsichtlich der Färbung der Gewebe durchaus mit dem überein, welchen man erhält, wenn man die Niere eines Thieres untersucht, das nach der Farbstoffinjection noch längere Zeit leben gelassen und erst zu der Zeit getödtet wird, wo die Ausscheidung des Indigcarmins aus dem Blute als beendet angesehen werden kann. Freilich wird man unter diesen Bedingungen die reichlichen Ablagerungen von Farbstoff, besonders in den Tubuli contorti, vermissen, da diese Niederschläge in Verlauf der relativ langen Zeit, welche nöthig ist, bis sich das Blut auch von den letzten Resten Farbstoff befreit hat, durch den secernirten Harn bereits fortgeschwemmt sind. Letzteres konnte in unserem Versuch nicht eintreten, weil wenige Minuten nach der Durchströmung des Organs mit indigcarminhaltigem Blut bereits wieder ein völlig normales Blut in den Gefäßen circulirte.

So ward es hier möglich, dass die Zellen der Tubuli contorti durch Ausscheidung des in ihnen enthaltenen Farbstoffes sich, da ihnen kein neuer zugeführt wurde, bereits entfärbt haben konnten, während im Lumen des von ihnen eingeschlossenen Kanals der Farbstoff noch massenhaft angehäuft war.

Diese bisher aufgeführten Versuche zeigen also jedenfalls, dass, bei vollständig erhaltenem Leben der sämtlichen Gewebe, die secretorische Thätigkeit unserer künstlich durchbluteten Nieren, soweit aus dem Verhalten gegen diese Farbstoffe geschlossen werden kann, wenigstens qualitativ der normalen gleichkommt.

Wenden wir uns nun der zweiten der beiden oben aufgeworfenen Fragen zu: ob nämlich die während der Durchleitung aus dem Ureter austretende Flüssigkeit als Harn anzusehen sei.

Es ist klar, dass nach dem durch die Färbungsversuche bereits gewonnenen Resultat die betreffende Flüssigkeit nicht als gewöhnliches, durch ein todt es Gewebe transsudirtes, Blutserum aufgefasst werden kann. Um aber einen Vergleich derselben mit dem normalen Harn zu ermöglichen, musste vor Allem ihr Gehalt an Harnstoff, als dem wichtigsten Ausscheidungsproduct, die eventuell in ihr enthaltene Eiweissmenge, sowie ihre Reaction festgestellt werden. Hierzu boten die in den beiden folgenden Protokollen wiedergegebenen Versuche Gelegenheit.

Versuch IV.

Einem Hunde von 15 kg wurden 400 ccm Blut zum Füllen des Apparats entzogen.

9 h. 43 m. bis 9 h. 50 m. wird das Thier verblutet, die Niere präparirt und

10 h. — m. die Circulation mit dem Apparat wieder eröffnet.

Zeit	Durchleitungsdruck in mm Quecksilber	Temperatur		Durchflussgeschwindigkeit durch das Organ von 100 ccm in	Menge der Ureterenflüssigkeit	Reaction der Ureterenflüssigkeit	Eiweiss mit Essigsäure nach Erwärmen nachgewiesen
		der Niere	des Blutes				
10 h — m bis 10 h 10 m	150—160	36°	32°	100 Sec.	—	—	—
10 h 10 m bis 10 h 20 m	150—160	37°	33°	90 "	—	—	—
10 h 20 m bis 10 h 25 m	150—160	37°	34°	80 "	0,6 ccm	ganz schwach alkalisch	minimale Spuren
10 h 25 m bis 10 h 55 m	150—160	37°	35°	60 "	3,0 ccm	etwas deutlicher alk.	deutliche Trübung
10 h 55 m bis 11 h 20 m	150—160	37°	35°	54 "	1,4 ccm	deutlich alkalisch	Flocken

11 h. 20 m. Es werden dem Blute 100 ccm Indigearminlösung zugesetzt.

11 h. 22 m. Die aus dem Ureter tretende Flüssigkeit ist blau gefärbt, während sie bisher einen schwach gelblichen Ton hatte.

11 h 20 m bis 11 h 25 m | 150—160 | 37° | 35° | 60 Sec. | 2,9 ccm | blau gefärbt

11 h. 25 m. wird der Versuch abgebrochen.

Die makroskopische, wie auch die mikroskopische Untersuchung ergeben, dass die Gewebe der Niere sich gegenüber dem Farbstoff durchaus normal verhalten haben.

Um in den gewonnenen 5 ccm Ureterenflüssigkeit den Eiweiss- und Harnstoffgehalt zu bestimmen, wurden dieselben mit 50 ccm absolutem Alkohol versetzt. Das auf diese Weise ausgefällte Eiweiss

auf einem aschenfreien Filter von bekanntem Trockengewicht gesammelt, gut mit Alkohol und schliesslich mit heissem Wasser ausgewaschen, dann bis zur Gewichtsconstanz getrocknet, wog 0,044 g.

Darauf wurde es mit dem Filter verascht und die Asche gewogen. Ihr Gewicht betrug 0,003 g. Es hatten also die 5 ccm Flüssigkeit 0,041 g = 0,82 Proc. Eiweiss enthalten.

Der von dem Eiweissniederschlag abfiltrirte, sowie zum Auswaschen desselben benutzte Alkohol wurde vereinigt, bei mässiger Temperatur zur Trockne eingedunstet, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und in der filtrirten Lösung nach dem Knop-Hüfner'schen Verfahren¹⁾ der Harnstoff bestimmt. Es ergab sich, dass in den 5 ccm Flüssigkeit 0,02 g = 0,4 Proc. Harnstoff enthalten gewesen waren. Da nach einer von v. Schröder zu anderen Zwecken ausgeführten Bestimmung das Blut dieses Hundes 0,05 Proc. Harnstoff enthalten hat, so war die gewonnene Ureterenflüssigkeit an demselben um 800 Proc. reicher, als das Blut, und mindestens um 400 Proc. reicher, als das in demselben befindliche Serum. Von den 0,2 g Harnstoff, welche sich in den zur Durchblutung angewandten 400 ccm Blut befunden hatten, waren demnach innerhalb einer Stunde 10 Proc. durch die Niere zur Ausscheidung gebracht.

Versuch V.

Einem Hunde, 13 Kilo schwer, wurden

11 h. 45 m. 400 ccm Blut zum Füllen des Apparats entzogen, dann die Nieren präparirt.

12 h. bis 12 h. 6 m. wird das Thier verblutet, die Cantilen werden schnell eingeführt, und um

12 h. 12 m. die Circulation im Apparat wieder eröffnet.

Zeit	Durchleitungsdruck in mm Quecksilber	Temperatur		Durchflussgeschwindigkeit in 100 ccm	Menge der Ureterenflüssigkeit	Reaction der Ureterenflüssigkeit	Eiweissreaction der Ureterenflüssigkeit beim	
		der Niere	des Blutes				Kochen	Essigsäurezusatz
12 h 12 m—12 h 16 m	160—170	36°	36°	8 Min.	—	—	—	—
12 h 16 m—12 h 56 m	160—170	38°	38°	8 "	4,3 ccm	sauer	klar	klar
12 h 56 m—1 h 6 m	170—180	38°	38°	8 "	1,2 ccm	neutral	schwach trübe	klar
1 h 6 m—1 h 20 m	170—180	38°	38°	8 "	1,4 ccm	ganz schwach alkalisch	schwach trübe	schwach trübe

1 h. 24 m. wird dem Blute Indigecarminlösung zugesetzt.

1) Journ. f. prakt. Chem. Neue Folge. III. Bd. S. 1 ff. Zeitschr. f. phys. Chem. I. Bd. S. 350 ff.

1 h. 25 m. tritt der Farbstoff in die Canüle der Arterie ein.

1 h. 30 m. ist die aus der Ureterencanüle austretende Flüssigkeit blau gefärbt.

Die mikroskopische Untersuchung der Niere ergibt ein durchaus normales Verhalten der Gewebe dem Farbstoff gegenüber.

Das schnelle Auftreten des Farbstoffs in der Ureterenflüssigkeit nach seinem Eintritt in das Nierengefäß in diesem Versuch, wie in den beiden vorhergehenden beweist, dass die saure Reaction und Abwesenheit von Eiweiss in den ersten 4,3 cm Ureterenflüssigkeit nicht durch die Annahme erklärt werden kann, es sei diese Flüssigkeit normaler Harn gewesen, welcher noch vom lebenden Thiere abgesondert, in den Harnkanälchen bei Beginn der Durchblutung enthalten gewesen sei.

Es beweisen nun diese beiden Versuche, dass eine mit dem Hämatiseur durchblutete Niere, unter sonst günstigen Bedingungen, im Stande ist, bei erhaltenem Leben ihrer sämtlichen Gewebe und functioneller Thätigkeit ihrer harnbildenden Zellen eine Flüssigkeit in die Harnwege auszuschcheiden, welche einerseits eiweissfrei ist und sauer reagirt, andererseits einen Gehalt an dem für den Harn charakteristischsten Ausscheidungsproduct, dem Harnstoffe, besitzt, welcher den Gehalt des Blutes an demselben um mehrere 100 Proc. übertrifft.

Da nun alle im Körper vorkommenden Transsudate Eiweiss enthalten, so beweist die Abwesenheit desselben in der Ureterenflüssigkeit, dass dieselbe weder selbst ein Transsudat sein, noch auch ein solches beigemischt enthalten haben kann.

Da wir ferner keine durch einfache Transsudation aus dem Blute entstandene, im Körper vorkommende Flüssigkeit kennen, welche sauer reagirte, so ist diese Reaction ein weiteres Kriterium dafür, dass es sich um ein solches Transsudat hier nicht handelt. Endlich dürfte aber der hohe Gehalt der Flüssigkeit an Harnstoff gegenüber dem Blute darauf hinweisen, dass letzterer durch eine active Thätigkeit der secretorischen Zellen wie in der normalen lebenden Niere aus dem Blute ausgeschieden worden sei.

Die Erzielung einer völlig eiweissfreien, sauer reagirenden Flüssigkeit, wie sie in dem vorliegenden Versuche Nr. V thatsächlich erhalten wurde, kann freilich durch verschiedene Umstände vereitelt werden. Unter diesen sind vor Allem die in den Ureteren sehr leicht auftretenden Blutungen zu nennen. Dieselben kommen auch beim Einbinden von Ureterencanülen im lebenden Thiere, wo also die Nieren selbst völlig ungestört weiter functioniren, sehr häufig vor und führen dann hier ebenso, wie bei der künstlich durchströmten Niere, zu Blu-

tungen, und damit zu Eiweissgehalt des Secretes, selbst wenn dasselbe normal und eiweissfrei von der Niere abgesondert wird. Demnach kann aus der Thatsache, dass das Secret einer künstlich durchbluteten Niere etwas Blut enthält, an sich noch nicht der Schluss gezogen werden, die Niere habe nicht normal functionirt. Ebensowenig ist dieser Schluss auf Grund einer neutralen oder schwach alkalischen Reaction ohne Weiteres berechtigt, da ja die durchaus normalen Nieren eines gesunden, unverletzten Hundes einen derartig reagirenden Harn ebenfalls gelegentlich liefern.

Das wichtigste Kriterium, in wie weit eine künstlich durchblutete Niere normal functionirt habe, dürfte deshalb, wie schon erwähnt, einerseits in dem Färbungsbild, andererseits in dem Gehalt des von ihr gelieferten Secrets an specifischen Harnbestandtheilen dem Blut gegenüber, vor Allem in dem Harnstoffgehalt zu suchen sein.

Nun werden aber dem die Nieren im Hämatisator durchströmenden Blute nicht, wie im lebenden Thiere, die für die Ausscheidung bestimmten Verbindungen stets von Neuem zugeführt, vielmehr befindet sich das Organ in dieser Hinsicht bald einem an ausscheidbaren Substanzen ärmeren Blute gegenüber, als es das normale ist, und kann deshalb, gemäss seiner Aufgabe dem Blut seine normale, gleichmässige Zusammensetzung durch Ausscheidung der überschüssigen Substanzen zu erhalten, bei mangelnder Zufuhr solcher auch nur geringere Mengen derselben zur Ausscheidung bringen.

Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte wird man auf Grund der vorliegenden Versuchsergebnisse die zweite von uns gestellte Frage dahin beantworten dürfen, dass eine nach der neuen Methode durchblutete Niere eine Flüssigkeit durch die Ureteren auszuseiden im Stande sei, welche als normal gebildetes und den Verhältnissen nach als normal zusammengesetztes, wenn auch thatsächlich verdünntes Secret angesehen werden kann.

Den bisher besprochenen, mit dem Hämatisator angestellten Durchblutungen gegenüber wurden auch 2 Versuche nach der alten Methode, wie dieselbe von Ludwig und Schmiedeberg zum Zweck der Untersuchung der chemischen Functionen der Gewebe ausgebildet worden ist, angestellt, um zu erfahren, wie sich unter diesen Bedingungen die Färbung der Nieren gestaltet. Wir verfahren dabei genau ebenso, wie es Munk (l. c.) bei seinen mit der gleichen Methode angestellten Versuchen beschreibt. In das isolirte, auf Körperwärme erhaltene Organ liessen wir 15 Minuten nach dem Verbluten des Thieres das mit 33 Proc. 0,7 proc. Kochsalzlösung verdünnte Blut unter einem constanten Druck von 100—120 mm

Quecksilber einströmen, dann, nachdem die Circulation etwa eine Stunde unterhalten worden war, wurde Indigcarmin dem Blute zugesetzt, darauf noch weitere 20 Minuten durchblutet, dann die Niere, wie beschrieben, mit Alkohol durchspült, gehärtet und mikroskopisch untersucht.

Die Versuche ergaben das aus dem folgenden Protokoll ersichtliche Resultat.

Versuch VI.

Ein Hund, 15 Kilo schwer, wird

11 h. 15 m. verblutet.

11 h. 30 m. wird in die Niere eine Mischung von 500 cem Blut mit 250 cem 0,7 proc. Kochsalzlösung eingeleitet.

Zeit	Durch- leitungsdruck in mm Quecksilber	Temperatur		Durchleitungs- geschwindigkeit von 100 cem	Ureterenflüssigkeit
		der Niere	des Blutes		
11 h 30 m	120	38°	38°	5 Min.	—
11 h 45 m	120	38°	38°	5 "	{ 1,2 cem etwas rüthlich gefärbter alkalischer Flüssigkeit, Eiweiss enthaltend.
12 h — m	120	38°	38°	4 "	

12 h. 25 m. Indigcarminlösung dem Blute zugesetzt.

12 h. 45 m. Die Nieren aus der Circulation ausgeschaltet und mit Alkohol durchspült.

Makroskopisch zeigen die Schnitte durch das Organ neben gut gefärbten zahlreiche ungefärbte oder etwas grünlich verfärbte Partien, so dass die Schnittfläche ein marmorirtes Aussehen hat.

Die mikroskopische Untersuchung ergibt ausser unregelmässig vertheilten, ungefärbten oder diffus blaugrün gefärbten Theilen zahlreiche Gebiete, welche hinsichtlich der Farbstoffvertheilung das gewöhnliche Verhalten aufweisen. Im Lumen der Harnkanälchen sind nur vereinzelte, spärliche Farbstoffablagerungen zu constatiren. Aus diesem Bilde, welches dem in 2 weiteren Versuchen erhaltenen im Wesentlichen gleich war, dürfte einerseits hervorgehen, dass in der That die nach der alten Methode durchbluteten Organe normal lebende und functionirende Gewebstheile neben abgestorbenen enthalten und also Blumberg ein, in der Methode als solcher nicht begründetes, zu ungünstiges Resultat erhielt, wie schon erwähnt, vermuthlich deshalb, weil er den Farbstoff dem Blute gleich bei Beginn der Durchblutung zusetzte. Andererseits erklärt dieses beschriebene Verhalten auch, warum es bisher nie gelungen ist, eine eiweissfreie, sauer reagirende Ureterenflüssigkeit zu erhalten, und warum in den Versuchen von Munk (l. c.) und Abeles¹⁾ der Gehalt derselben an

1) Monatshefte f. Chem. IV. Bd. S. 325 ff.

Harnstoff und den sonstigen Harnbestandtheilen ein relativ so geringer gegenüber dem Gehalte des Blutes an diesen Substanzen war. Es werden eben vermuthlich in allen auf diese Weise durchströmten Organen stets neben den normal ernährten und functionirenden Theilen bald mehr, bald weniger umfangreiche gewesen sein, die ungenügend oder gar nicht mit Blut versorgt wurden und deshalb, sofern sie abstarben, ein gewöhnliches Transsudat zu dem relativ normal gebildeten Secrete lieferten. Dass aber unter den Bedingungen des constanten Druckes, wie er bei der alten Methode zur Anwendung kommt, eine solche ungleiche Blutversorgung nicht wohl zu vermeiden ist, dürfte aus dem im Folgenden Gesagten hervorgehen. Schon bei seinen früheren Versuchen war es v. Sobieranski wiederholt aufgefallen, dass bei der Durchströmung mit constantem Druck, obgleich unverdünntes Blut angewendet wurde, die Nieren in ihren höher gelegenen Theilen weniger intensiv roth gefärbt erschienen, als in den tiefer gelegenen. Diese Erscheinung, welche auch in unseren Versuchen zur Beobachtung gelangte und, wie wir uns bei Gelegenheit anderer Versuche überzeugten, um so deutlicher hervortrat, je langsamer das Blut das Organ passirt, dürfte aber auf eine ungleiche Vertheilung der rothen Blutkörperchen durch Senkung derselben zurückzuführen sein. Dem zufolge tritt dieselbe denn auch bei Benutzung verdünnten Blutes, wie es Munk meist anwandte, noch weit leichter als bei nur defibrinirtem Blute ein, während sie unter dem alternirenden Drucke nicht zu Stande kommen kann. Die Folge dieser Senkung muss aber sein, dass die höhergelegenen Theile von einem an Blutkörperchen ärmeren, die tiefer gelegenen Theile umgekehrt von einem an Blutkörperchen reicheren Blute durchströmt werden und infolge dessen ihre Ernährung und Athmung eine verschiedene ist. Ausserdem kommt es aber unter den Bedingungen des constanten Drucks offenbar leicht zum Verschluss einzelner kleinerer Gefässe, so dass die von denselben mit Blut versorgten Gebiete, von der weiteren Ernährung ausgeschlossen, ihre Function einstellen. Nun ist ja nicht zu leugnen, dass unter zufällig günstigen Umständen gelegentlich ein relativ grosser Theil des Nierengewebes einige Zeit hindurch normal durchströmt und ernährt werden, und dann auch relativ normal functioniren kann; doch dürfte es selbst bei der ausgebildetsten Technik mit dem alten Verfahren kaum gelingen, die Niere gleichmässig in allen ihren Theilen völlig normal am Leben zu erhalten, wie dies mit dem Hämatisator gelungen ist, und bei der nöthigen technischen operativen Uebung auch mit einer gewissen Sicherheit zu erzielen sein dürfte.

Leider konnten wegen Mangels an Versuchsthieren nicht zahlreichere Durchblutungen angestellt werden.

Immerhin dürfte aber aus den vorliegenden Versuchen hervorgehen, dass durch die vom Hämatisator unterhaltene Circulation dem Nierengewebe seine normale Lebensfähigkeit und Function in toto erhalten werden kann, und dass die eventuellen Abweichungen, welche das von ihm unter sonst günstigen Umständen gelieferte Secret zeigt, ihren Grund vor Allem darin haben, dass dem Blute die für die Ausscheidung bestimmten Stoffe nicht wieder, wie im lebenden Körper, ununterbrochen in gleicher Menge zugeführt werden. Da man aber die Zusammensetzung des die Hämatisatornieren durchströmenden Blutes beliebig verändern kann, so wäre es vielleicht gerade auf diese Weise möglich, Aufschlüsse über die Abhängigkeit der Zusammensetzung des Harns von derjenigen des Blutes zu gewinnen. Jedenfalls aber steht nach den Ergebnissen dieser Durchblutungen zu hoffen, dass es gelingen wird, die Functionen anderer Organe, welche von der Blutzusammensetzung nicht in so unmittelbarer Weise, wie die der Niere, abhängig sind, mit Hilfe der neuen Versuchsanordnung einer isolirten Beobachtung mit allen ihren Vortheilen zugänglich zu machen.