

Aus der II. med. Universitätsklinik der Königl. Charité in Berlin  
(Director: Geh.-Rat Prof. Dr. Fr. Kraus).

## Histochemische Untersuchungen über die Harnstoffbildung in der Leber.

Von

**Erich Leschke.**

(Hierzu Tafel XIV.)

Die Bildung des Harnstoffs, des für den Menschen und die Säugetiere wichtigsten Endproductes des Eiweissstoffwechsels, ist bisher lediglich mit physiologisch-chemischen Methoden untersucht worden. Diese Untersuchungen haben das Ergebnis gehabt, dass die Leber das hauptsächlichste, wenn nicht das einzige Organ der Harnstoffbildung ist. v. Schröder sowie Schmiedeberg fanden, dass Blut, welches kohlen saures Ammoniak enthielt, nach längerem Durchströmen durch die Leber eine starke Zunahme an Harnstoff zeigte, während Durchströmungsversuche an anderen Organen keine solche Vermehrung an Harnstoff ergaben. v. Schröder beobachtete an der durchbluteten Leber des Hundes Bildung von 1,2 g Harnstoff während der Dauer eines Durchströmungsversuches.

Eine Harnstoffbildung konnte jedoch nur dann erzielt werden, wenn entweder dem durchströmenden Blute irgendein Ammonsalz zugeführt wurde, oder wenn die Leber eines in Verdauung befindlichen Tieres mit dem Blute eines gleichfalls in Verdauung befindlichen Tieres durchströmt wurde. Dass es sich bei diesen Durchströmungsversuchen wirklich um eine Bildung und nicht nur um eine vermehrte Ausschwemmung des Harnstoffs handelte, bewies Schmiedeberg in einer überaus ingenösen Versuchsanordnung, indem er dem durchströmenden Blute statt des kohlen sauren Ammoniaks kohlen saures Aethylammonium zusetzte. Dabei entstand nicht Harnstoff, sondern Monoäthylharnstoff.

Ob andere Organe als Harnstoffbildner in Betracht kommen, ist noch nicht entschieden. Auch die neueren Versuche von Salaskin und Zalesky lassen die Möglichkeit der Harnstoffbildung ausserhalb der Leber offen. Bei manchen Tieren, z. B. beim Katzenhai, findet man nach den Feststellungen v. Schröders auch in den Muskeln einen reichlichen Harnstoffgehalt.

Als Harnstoffbildner kommen in Betracht die Salze des Ammoniaks (v. Schröder, Schmiedeberg u. a.), die Aminosäuren (Schultze und Nencki, Stolte) und das Arginin (Kossel und Dakin, Drechsel). Ueber die Art, wie die Leber aus diesen Stoffen Harnstoff bildet, sind wir noch nicht ganz unterrichtet. Frerichs hatte bereits vermutet, dass

die Harnstoffbildung in der Leber auf der Wirkung eines Fermentes beruhe, und Richet glaubte, in Leberextracten ein harnstoffbildendes Ferment gefunden zu haben. Nachuntersuchungen mit einer verbesserten Methode des Harnstoffnachweises, die Spitzer, Loewy sowie Gottlieb und v. Schröder ausgeführt haben, zeigten jedoch, dass die von Richet gefundene Substanz wohl ein alkoholätherlösliches und mit Mercurinitrat ausfallendes Amid, aber kein Harnstoff ist. Wahrscheinlich kommen für die verschiedenen Vorstufen des Harnstoffs verschiedene Entstehungsmöglichkeiten in Betracht. So wird das Arginin nach Untersuchungen von Kossel und Dakin sowie von Drechsel einfach hydrolytisch gespalten (Arginase). Derartige hydrolytische Spaltungen kommen ja auch für andere Stoffe in der Leber vor. Für die Ammoniaksalze hatte Schmiedeberg angenommen, dass sie durch Anhydridbildung Harnstoff entstehen lassen. Durch neuere Untersuchungen von Epstein mit milchsaurem Ammoniak hat diese Annahme eine wesentliche Stütze gewonnen. Ausserdem kann nach Hofmeister Harnstoff durch eine oxydative Synthese [z. B. aus Oxaminsäure (Halsey)] entstehen. Ob schliesslich auch analog der Wöhlerschen Synthese des Harnstoffs aus Cyansäure und Ammoniak in der Leber Harnstoff entstehen kann, wie Hoppe-Seyler es für möglich gehalten hat, ist zweifelhaft, da man bis jetzt im tierischen Organismus Cyansäure nicht hat nachweisen können.

Ihren Höhepunkt erreicht die Harnstoffbildung in der Leber nach den Feststellungen von Nencki, Pawlow und Zaleski während der Verdauung, wobei der Leber reichliche Mengen von Harnstoffbildnern zugeführt werden. Aber auch im Hungerzustande verarmt die Leber nicht ganz an Harnstoff, wie wir aus den Versuchen von Salkowsky sowie von Jacoby wissen.

Dass die Harnstoffbildung in der Leber ein für die Erhaltung des Lebens ausserordentlich wichtiger Vorgang ist, haben die Versuche Nenckis gezeigt, der nach Leberausschaltung und reichlicher Eiweissfütterung ausserordentlich schwere Vergiftungserscheinungen zustande kommen sah, die durch die Vorstufen des Harnstoffs, wie das kohlen- und karbaminsäure Ammoniak verursacht wurden. Auch über die Ausscheidung des in der Leber gebildeten Harnstoffs liegen Untersuchungen vor, die gezeigt haben, dass derselbe zum grössten Teil in das Blut ausgeschieden wird, um von da durch die Nieren entfernt zu werden, während in der Galle nur Spuren von Harnstoff abgesondert werden.

Alle diese Feststellungen sind mit Hilfe physiologisch-chemischer Methoden gewonnen worden. Es musste von Interesse sein zu untersuchen, ob man nicht den Harnstoff in der Leber auf histochemischem Wege nachweisen und die Stätte seiner Bildung sowie seiner Ausscheidung in das Blut sichtbar machen könnte.

Da ich bereits in früheren Untersuchungen gezeigt hatte, dass man den Harnstoff durch Fälen mit Mercurinitat histochemisch in der Niere nachweisen kann, untersuchte ich auch mit der gleichen Methode die Leber verschiedener Säugetiere in den verschiedenen Stadien der Verdauung und des Hungerns. Durch das Mercurinitrat wird natürlich nicht

nur der Harnstoff gefällt, sondern neben ihm auch einzelne seiner amidartigen Vorstufen. Für die hier vorliegende Frage fällt dieser Umstand aber nicht nennenswert ins Gewicht.

Die erste Mitteilung meiner Versuchsergebnisse erfolgte auf dem XXXI. Congress für innere Medicin in Wiesbaden im April 1914.

Die Technik der Versuche gestaltete sich folgendermassen:

Hunden, Kaninchen oder Meerschweinchen wurden kleine, höchstens  $\frac{1}{2}$  mm dünne Leberschnitte frisch exstirpiert, entnommen und in eine verdünnte Lösung von Mercurnitrat in 1 proc. Salpetersäurelösung eingelegt. Da stärker concentrirte Lösungen des Quecksilbersalzes die Gewebe ausserordentlich brüchig machen, wurden stets mehrere Stücke derselben Leber in verschieden stark concentrirte ( $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{2}$  gesättigte) Lösungen eingelegt. Nach 24 stündigem Verweilen wurden die Stücke 6—12 Stunden lang gut gewässert, bis alles lösliche Quecksilber sicher entfernt war, und dann in Paraffin gebettet. In den Schnitten wurde der Quecksilberharnstoff durch Einlegen in frisches Schwefelwasserstoffwasser zu braunschwarzem Quecksilbersulfid verwandelt.

Lebern, welche bei gut gefütterten Tieren auf der Höhe der Verdauung untersucht wurden, zeigten durchweg einen ziemlich starken Harnstoffgehalt in allen Leberzellen. Ein Beispiel hierfür zeigt Fig. 1 (Taf. XIV). Die Kupfferschen Sternzellen treten hierbei ganz zurück; man sieht nur ihren Kern zwischen den Leberzellbalken.

Einen noch stärkeren Harnstoffgehalt zeigen die Lebern von Tieren, denen vorher harnstoffbildende Stoffe, z. B. kohlen-saures oder carbamin-saures Ammoniak oder Aminosäuren injiziert worden waren.

Ganz anders ist das Bild dagegen nach Beendigung der Harnstoffbildung in den letzten Stadien der Harnstoffausscheidung aus der Leber, wie es Fig. 2 (Taf. XIV) veranschaulicht. Man sieht hierbei, dass die Leberzellen nur noch einzelne Harnstoffniederschläge enthalten, während die Kupfferschen Sternzellen ausserordentlich stark harnstoffhaltig sind und geradezu electiv gefärbt zur Darstellung gelangen. Auch die Lymphräume enthalten Harnstoff.

Wenn man solche Bilder auch nicht immer bekommt, so sieht man sie doch recht häufig im Beginn des Hungerzustandes nach vorher stattgehabter Verdauung. Sie geben einen Anhaltspunkt dafür, dass die Ausscheidung des in der Leber gebildeten Harnstoffs in die Lymphbahn und von da in das Blut nicht allein direct erfolgt, sondern zu einem grossen Teil durch die vermittelnde Tätigkeit der Kupfferschen Sternzellen bewirkt wird. Es wird dadurch ein gleichmässigeres Uebertreten des Harnstoffs in das Blut gewährleistet. Diese Regulation ist darum besonders zweckmässig, weil der Harnstoff, wie wir aus den Versuchen von Heilner wissen, den gesamten Eiweissstoffwechsel in beträchtlichem Masse zu steigern vermag. Heilner fand, dass subcutane Einverleibung von Harnstoff eine Mehrzersetzung von Eiweiss bewirkt, die im Durchschnitt 53,4 pCt. betrug und bis zu 88,6 pCt. steigen konnte. Es ist wohl denkbar, dass die regulierende Tätigkeit der Kupfferschen Sternzellen zugleich auch den Zweck hat, solche starken Schwankungen des Eiweissstoffwechsels auszugleichen, wie sie bei directer Ausschwemmung des Harnstoffs aus den Leberzellen in das Blut notwendigerweise zustande kommen müssten.

Durch diese Feststellung gewinnen die Kupfferschen Sternzellen eine weitere Bedeutung. Während man bisher diese Zwischenzellen der Leber lediglich als einen Schlammfang für körperfremde Substanzen und namentlich für nicht gelöste Partikelchen kennen gelernt hatte, scheinen sie darüber hinaus auch eine Bedeutung zu besitzen für die Regulation des Uebertritts der normalen Stoffwechselproducte der Leberzellen in die Lymphe und den Blutkreislauf.

Anhaltspunkte für eine Harnstoffbildung in andern Organen liessen sich auf histochemischem Wege ebensowenig gewinnen wie bisher mit den physiologisch-chemischen Methoden. Namentlich konnten im Muskel von Säugetieren grössere Mengen von Harnstoff nicht nachgewiesen werden, und zwar weder in der Ruhe noch nach Muskeltätigkeit.

### **Zusammenfassung.**

Der histochemische Nachweis des Harnstoffs in der Leber gelingt durch Fällen des Harnstoffs mit Mercurinitrat und Ueberführen des Quecksilberharnstoffs in braunschwarzes Quecksilbersulfid durch Behandeln der Schnitte mit Schwefelwasserstoffwasser.

Auf der Höhe der Verdauung sowie nach Einführung von Harnstoffbildnern (Ammoniaksalzen, Aminosäuren) zeigt die Leber der Säugetiere einen starken Harnstoffgehalt, und zwar sind alle Leberzellen gleichmässig an der Harnstoffbildung beteiligt.

Die Ausscheidung des Harnstoffs in Lymphe und Blut erfolgt jedoch nicht nur direct von den Leberzellen aus, sondern sie wird auch durch die Kupfferschen Sternzellen reguliert; dabei füllen sich dieselben mit Harnstoff und geben ihn allmählich an die Lymphe ab. Diese Regulation des Harnstoffübertritts ist insofern als eine zweckmässige Einrichtung anzusehen, als dadurch die starken Schwankungen des Eiweissstoffwechsels, die der Eintritt grösserer Harnstoffmengen in den Kreislauf bedingt, gemildert werden.

Die Kupfferschen Sternzellen sind demnach nicht allein ein Schlammfang für körperfremde Stoffe und ungelöste Partikelchen, sondern haben auch Bedeutung für die Regulation des Uebertritts der normalen Stoffwechselproducte der Leberzellen in den Kreislauf.

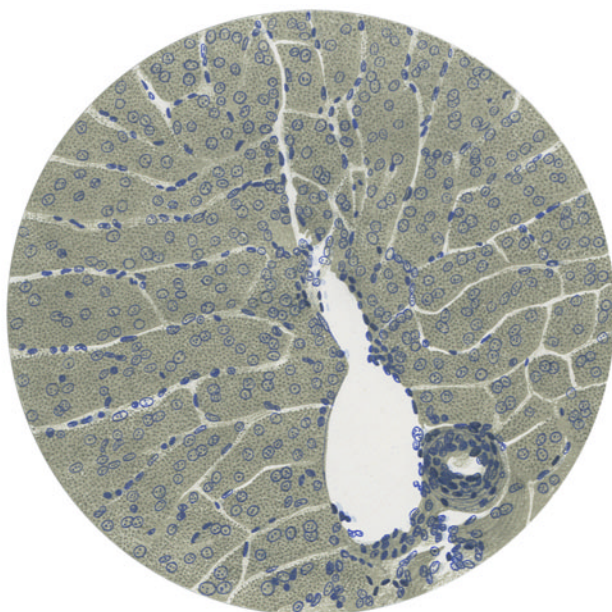
In den anderen Organen liess sich eine Harnstoffbildung auch auf histochemischem Wege nicht nachweisen.

### **Erklärung der Abbildungen auf Tafel XIV.**

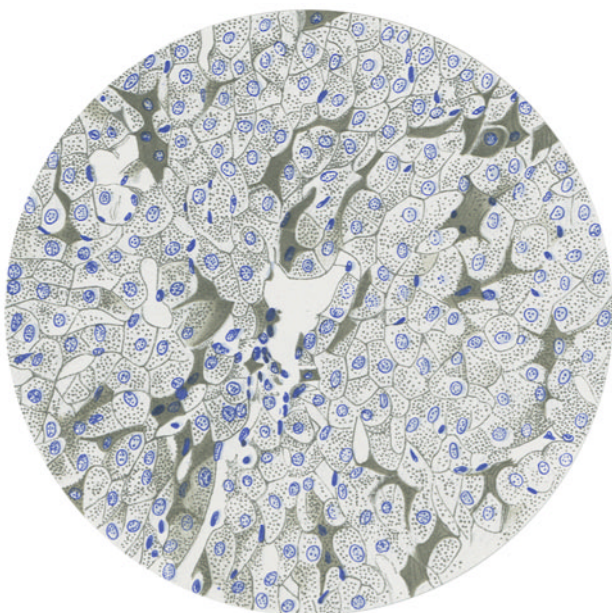
- Figur 1: Kaninchenleber auf der Höhe der Verdauung. Obj. 6. Oc. 2. — Starke Harnstoffbildung in allen Leberzellen. Von den Kupfferschen Sternzellen sind nur die Kerne sichtbar.
- Figur 2: Kaninchenleber zu Beginn des Hungerzustandes nach beendiger Verdauung. Obj. 6. Oc. 2. — Geringer Harnstoffgehalt der Leberzellen. Electives Hervortreten der mit Harnstoff imbibierte Kupfferschen Sternzellen. Harnstoff in den Lymphräumen.

### Literaturverzeichnis.

1. Drechsel, Arch. f. Anat. u. Phys. Phys. Abt. 1891. — Journ. f. prakt. Chemie. Neue Folge. 1892. Bd. 22. S. 476.
  2. A. Epstein, Biochem. Zeitschr. 1910. Bd. 23. S. 250.
  3. Frerichs, Klinik d. Leberkrankheiten. 1858. Bd. 1.
  4. Gottlieb und v. Schröder, Arch. f. exp. Path. 1899. Bd. 42. S. 238.
  5. Halsey, Zeitschr. f. phys. Chemie. 1898. Bd. 25. S. 325.
  6. Heilner, Zeitschr. f. Biol. 1909. Bd. 52. S. 216.
  7. Jacoby, Ergebn. d. Physiol. 1902. Bd. 1. S. 532. — Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1900. Bd. 30. S. 167.
  8. Kossel und Dakin, Ebenda. 1904. Bd. 41. S. 321. — 1904. Bd. 42. S. 181.
  9. E. Leschke, Congr. f. innere Med. Wiesbaden 1914. S. 637.
  10. Loewi, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 25. S. 511.
  11. Nencki, Chem. Ber. 1872. Bd. 5.
  12. Nencki, Pawlow und Zaleski, Arch. f. exp. Pathol. 1895. Bd. 37. S. 26.
  13. Salaskin, Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1898. Bd. 25. S. 128 und 449.
  14. Salaskin und Zaleski, Ebenda. 1899. Bd. 28. — 1900. Bd. 29. S. 517.
  15. Salkowski, Ebenda. 1877. Bd. 1. — 1880. Bd. 4. S. 44 und 100. — 1882. Bd. 7. — Chem. Ber. 1873. Bd. 6. — Zeitschr. f. klin. Med. 1891.
  16. Schmiedeberg, Arch. f. exp. Path. 1878. Bd. 8. S. 1.
  17. v. Schröder, Ebenda. 1882. Bd. 15. S. 364. — 1885. Bd. 19. S. 373. — Zeitschrift f. physiol. Chemie. 1890. Bd. 14. S. 576.
  18. Schultze und Nencki, Zeitschr. f. Biol. 1872. Bd. 8. S. 124.
  19. Schwarz, Arch. f. exp. Path. 1898. Bd. 41. S. 60.
  20. Spitzer, Pflügers Arch. 1898. Bd. 71.
  21. Stolte, Hofmeisters Beitr. 1904. Bd. 5. S. 15.
  22. E. Weinland, Die Physiologie der Leber. Handbuch d. Physiol. v. Nagel. 1907. Bd. 2. S. 424.
-



*Fig. 1.*



*Fig. 2.*

*E. Laue, Lith. Inst. Berlin.*