

BEITRÄGE

ZUR

KENNTNISS DER ALKAPTONURIE.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER MEDICINISCHEN DOCTORWÜRDE

DER

HOHEN MEDICINISCHEN FAKULTÄT

DER

ALBERT-LUDWIGS-UNIVERSITÄT ZU FREIBURG i.Br.

VORGELEGT VON

HEINRICH EMBDEN

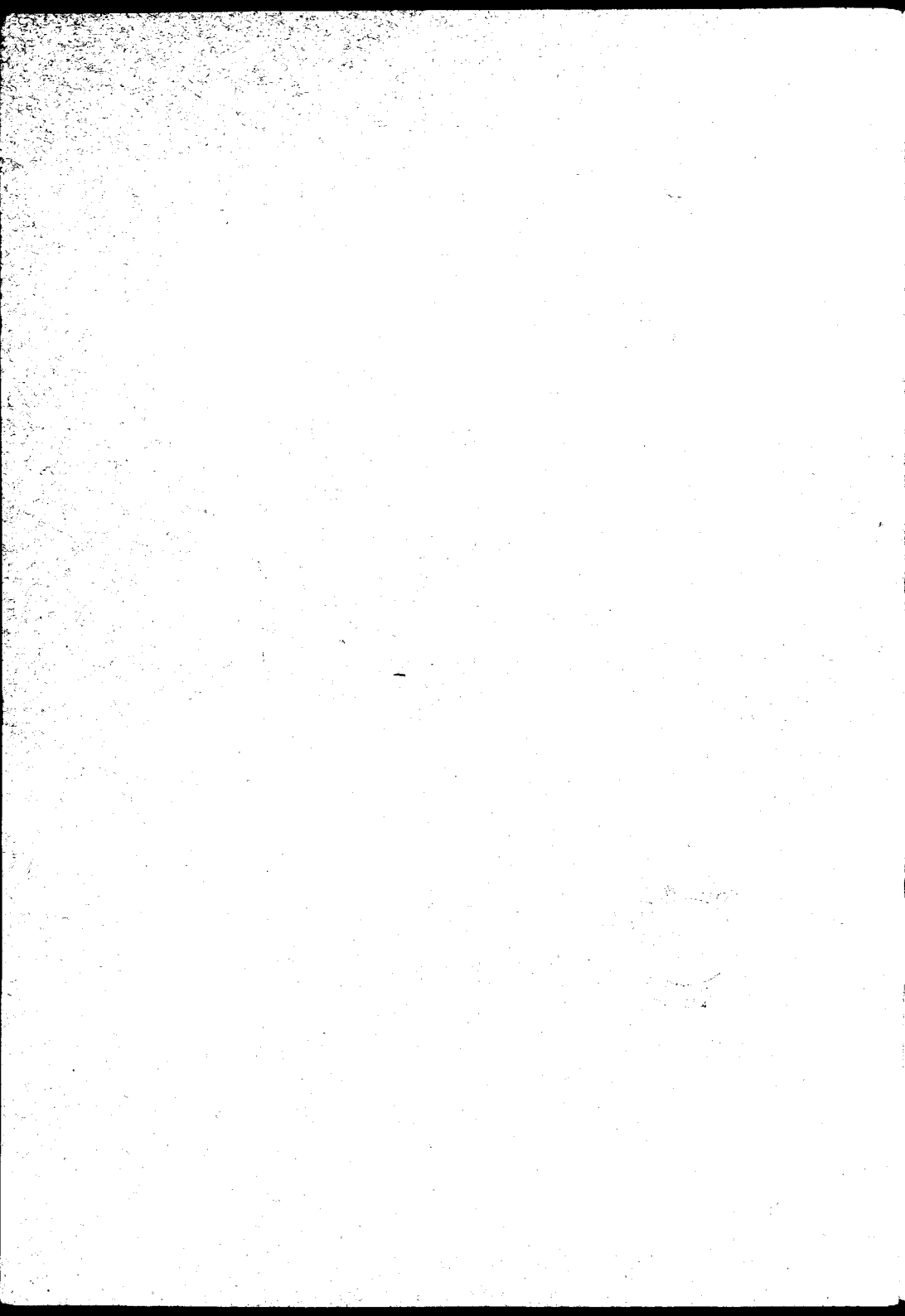
AUS HAMBURG.



STRASSBURG

VERLAG VON KARL J. TRÜBNER

1893.



BEITRÄGE
ZUR
KENNTNISS DER ALKAPTONURIE.

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR
ERLANGUNG DER MEDICINISCHEN DOCTORWÜRDE
DER
HOHEN MEDICINISCHEN FAKULTÄT
DER
ALBERT-LUDWIGS-UNIVERSITÄT ZU FREIBURG i.Br.

VORGELEGT VON
HEINRICH EMBDEN
AUS HAMBURG.



STRASSBURG
VERLAG VON KARL J. TRÜBNER
1893.

Rektoratsjahr 1893/94.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät.

Dekan: **Geh. Hofrath Prof. Dr. E. ZIEGLER.**

Referent: **Prof. Dr. E. BAUMANN.**

Meinen Eltern.

Dem von Baumann¹⁾), Kraske¹⁾ und Wolkow²⁾ untersuchten Falle von Alkaptonurie, an welchem es den genannten Autoren zum ersten Mal gelang, Constitution und Herkunft einer Alkaptonsubstanz mit Sicherheit festzustellen, habe ich³⁾ in meiner ersten Mittheilung einen zweiten ganz analogen Fall angereicht, indem ich nachwies, dass die Schwester des oben erwähnten Patienten ebenfalls einen homogentisinsäurehaltigen Harn entleert. Ferner wurde gezeigt, dass die augenfälligen Symptome der Alkaptonurie bei beiden Geschwistern seit der Säuglingszeit ununterbrochen bestehen, und schliesslich der Nachweis geführt, dass die beiden Alkaptonpatienten mit ihrer Stoffwechselanomalie in ihrer Familie und Umgebung vollständig isolirt dastehen.

Zur Zeit meiner ersten Publikation war mir leider ein von Garnier und Voirin⁴⁾ mitgetheilter Fall von Alkaptonurie entgangen, welchen diese Autoren nach den von Wolkow und Baumann angegebenen Methoden untersucht haben. Es handelte sich um einen Patienten, der, wie Garnier und Voirin ausdrücklich hervorheben, in zwei französischen

¹⁾ Baumann und Kraske, Münch. med. Wochenschr. 1891, No. 1.

²⁾ Wolkow und Baumann, Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. XV, S. 228.

³⁾ Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. XV, S. 182.

⁴⁾ Garnier et Voirin, Archives de Physiologie, Cinquième Série. Thome IV No. 2, April 1892, S. 225.

Universitätsstädten auf Grund der reducirenden Eigenschaften seines Harns als Diabetiker angesehen worden war, bis Garnier und Voirin durch die von ihnen beobachtete optische Inactivität des fraglichen Urins auf die richtige Diagnose geleitet wurden. Da ihnen nur geringe Harnquantitäten zur Verfügung standen, mussten sie sich mit der qualitativen Untersuchung der reducirenden Substanz begnügen und darauf verzichten, die näheren Verhältnisse der Ausscheidung zu verfolgen. Sie stellten die Alkaptonsubstanz aus einem Tagesquantum des Urins auf bekannte Weise dar und fanden sie mit der von den deutschen Autoren beschriebenen Homogentisinsäure identisch. Auffallend erscheint, neben einigen unten zu erwähnenden mehr theoretischen Bemerkungen der Verfasser, die Angabe, dass der Harn, sowie die isolirte Säure alkalische Wismuthlösung reducirt habe, ein Verhalten, welches mit dem bisher beobachteten in Widerspruch steht. Der Fall ist insofern interessant, als er zeigt, dass Verwechselungen der Alkaptonurie mit Glykosurie durchaus nicht in das Gebiet der Unmöglichkeiten gehören, sodass vielleicht, bei weiterer Verbreitung der Kenntniss der Alkaptonurie dieselbe nicht mehr als eine so eminent seltene Anomalie erscheinen wird, wie es aus der spärlichen Zahl der beschriebenen Fälle den Anschein hat.

Während nun Garnier und Voirin, in Uebereinstimmung mit fast allen andern Beobachtern, neben der Alkaptonsubstanz andere reducirende Körper, insbesondere Traubenzucker, mit Sicherheit ausschliessen konnten, ist neuerdings von Geyger¹⁾ eine Alkaptonurie beobachtet worden, welche in dieser, wie auch in anderer Beziehung wesentlich abweichende und interessante Verhältnisse darbietet.

Es trat nämlich im Harn eines Diabetikers, welcher schon seit Wochen fortlaufend von Geyger untersucht wurde, eines Tages in beträchtlicher Menge eine Substanz auf, welche Fehling'sche Lösung reichlich reducirt, ohne mit Hefe zu

¹⁾ A. Geyger, Glykosurinsäure im Harn eines Diabetikers. Pharmaceutische Zeitung, 6. Aug. 1892, S. 488.

vergähren. Während nämlich zur Reduction von 10 ccm. Fehling'scher Lösung 0,4 ccm. des unverdünnten Harns genühten, woraus sich ein Zuckergehalt von 12,5% berechnen würde, liessen sich durch Vergährung nur 1,4% Zucker nachweisen. Schüttelte man nun den mit Schwefelsäure angesäuerten Harn mit Aether aus, so verbrauchten 10 ccm. Fehling'scher Lösung 4 ccm. desselben, entsprechend einem Zuckergehalt von ca. 1,25%. Bei der Untersuchung der dem Harn durch Aether entzogenen Substanz kam Geyger auf die Vermuthung, er habe es mit Marshall's Glykoursäure zu thun; in der That gelang es ihm, aus 250 ccm. Harn nach dem von Marshall angegebenen Verfahren eine Säure herzustellen, welche weisse Prismen bildete, bei 143° schmolz und deren Bleisalz 33,64% Blei enthielt. Auf Grund dieser Daten, sowie des sonstigen Verhaltens der Säure kam Geyger, welchem die beiden Freiburger Fälle nicht bekannt waren, zu dem Schluss, es liege in der That Marshall's Glykoursäure vor.

Als Geyger's Mittheilung uns zu Gesicht kam, fiel uns sofort die grosse Uebereinstimmung der von ihm isolirten Substanz mit der Homogentisinsäure auf; die Identität beider Körper war um so wahrscheinlicher, als Wolkow und Baumann bereits mit grosser Wahrscheinlichkeit Marshall's Säure als Homogentisinsäure gedeutet hatten¹⁾. Herr Dr. Geyger hatte die Güte, meine brieflich ausgesprochene diesbezügliche

¹⁾ Diese Vermuthung konnte Herr Prof. Baumann an einer ihm von Herrn Prof. Marshall gütigst zur Verfügung gestellten Probe der «Glykoursäure» bestätigen. Herr Prof. Baumann hatte die Güte, mir seine diesbezüglichen Untersuchungen zur Veröffentlichung zur Verfügung zu stellen. Er untersuchte das Bleisalz der Marshall'schen Säure und fand bei der Schmelzpunkts- und der Krystallwasserbestimmung mit dem homogentisinsäuren Blei übereinstimmende Werthe. 0,2110 gr. luft-trockenes Salz verloren bei 100° 0,019 gr. H₂O.

Berechnet für:		Gefunden:
$C_{16}H_{14}O_8 Pb. + 3 H_2O$:		
$H_2O =$	9,08 %.	
		9,01 %.

Das Salz schmolz in Uebereinstimmung mit dem der Homogentisinsäure bei 215°.

Vermuthung dahin zu bestätigen: «er sei fest davon überzeugt, dass die Säure mit der Homogentisinsäure identisch sei». In der That stimmen beide Körper in ihrem Verhalten gegen ammoniakalische Silberlösung, alkalische Wismuthlösung, Eisenchlorid, sowie beim Erhitzen vollständig überein. Auch der Gehalt des Bleisalzes (Geyger 34,64% Pb.) an Blei stimmt sehr gut mit dem des krystallwasserhaltigen Bleisalzes der Homogentisinsäure (34,79% Pb.). Leider reichte Geyger's Substanz nicht für eine Elementaranalyse aus, denn, und darin unterscheidet sein Fall sich von allen bisher bekannten, die Erscheinung der Alkaptonurie dauerte nur einen Tag. Erst später, als der Zuckergehalt des Urins vollständig verschwunden war, konnte Herr Dr. Geyger, wie ich ebenfalls einer brieflichen Mittheilung entnehme, die Säure noch einmal nachweisen; sonst wurde sie während wochenlanger Untersuchung vermisst. Herr Dr. Geyger hatte die Güte hinzuzufügen, dass der Kranke während der Beobachtungsdauer mit Extr. folior. Myrtilli behandelt wurde, dass aber im Harn anderer Diabetiker, welche dasselbe Extract nahmen, die Säure nicht aufzufinden gewesen sei.

Dieser Fall Geyger's weicht also von den übrigen Fällen, in welchen Homogentisinsäure nachgewiesen wurde (Bauermann und Kraske, Marshall, Garnier und Voirin, Embden), nicht nur darin ab, dass die Säure einmal neben Glykose¹⁾ auftrat, sondern vor allem darin, dass die Erscheinung der Alkaptonurie keine dauernde, sondern eine sporadisch auftretende gewesen ist.

Mit der Besprechung der Arbeiten von Garnier und Voirin und Geyger ist die ganze Alkaptonurie-Litteratur des letzten Jahres erledigt.

Ich lasse jetzt die Mittheilung der am Schlusse meiner ersten Publikation erwähnten Stoffwechselversuche an der

¹⁾ Auch in Boedeker's Fall wurde neben dem Alkapton einmal gährungsfähiger Zucker beobachtet. Da aber über die Natur des Boedeker'schen Alkaptons nichts bekannt ist (Boedeker gibt an, dasselbe sei N-haltig), so ziehen wir seinen Fall hier nicht zum Vergleich heran.

Alkaptonpatientin, sowie einer Reihe daran anschliessender Versuche an normalen Menschen (Verf.), sowie am Hunde folgen. Ehe ich jedoch in die Schilderung der einzelnen Experimente eingehe, erscheint es zur Vermeidung von Wiederholungen zweckmässig, einiges über die Ziele dieser Versuche, sowie über die zur Anwendung gekommenen Untersuchungsmethoden vor auszuschicken.

Plan und Methode der Versuche.

Seitdem Wolkow und Baumann bei ihrem Patienten die Bildung der Homogentisinsäure aus dem Tyrosin erwiesen und diese Umwandlung als einen den Gährungsvorgängen analogen Process gedeutet haben, ist die Frage nach dem Orte der Alkaptonbildung in den Vordergrund des Interesses getreten. Aus den in meiner ersten Mittheilung rekapitulirten Gründen haben Wolkow und Baumann die Hypothese aufgestellt, es handle sich bei der Alkaptonurie um eine abnorme, durch pflanzliche, hefeartige Mikroorganismen vermittelte, im Darmkanal sich abspielende Umwandlung des Tyrosins. Durch diese Hypothese waren dem Experimente ganz bestimmte Bahnen vorgezeichnet. Es musste geprüft werden, ob durch Maassnahmen, welche erfahrungsgemäss die Gährungs- und Fäulnissprocesse im Darmkanal herabsetzen, die Quantität der ausgeschiedenen Homogentisinsäure beeinflusst werde. Nach Erledigung der Vorfrage, ob auch bei unserer Patientin das Tyrosin als Muttersubstanz der Homogentisinsäure anzusehen sei, ob es ferner vielleicht durch andere, ähnlich constituirte aromatische Körper vertreten werden könne, haben wir uns der eben gekennzeichneten Aufgabe in mehreren Versuchsreihen zugewandt. Wir haben damit ein in derselben Richtung sich bewegendes Experiment von Wolkow und Baumann ergänzt. Weiter war es ebenfalls im Hinblick auf die oben gestellte Hauptfrage von Interesse, das Verhalten in den Darmkanal der Alkaptonpatientin eingeführter Homogentisinsäure kennen zu lernen. Die natürliche Ergänzung dieses Experiments bilden Versuche, bei welchen normalen Menschen Homogentisinsäure einverleibt wurde. Dieser Versuch gewann

erhöhte Wichtigkeit, als man bei der Alkaptonpatientin auf Anomalieen der Harnsäureausscheidung aufmerksam geworden war. Die bezüglich, in meiner ersten Mittheilung kurz erwähnten Verhältnisse werden in einem besonderen Abschnitte abgehandelt werden. — Endlich schien es zur Ergänzung eines von Wolkow und Baumann angestellten Versuches wünschenswerth, den Urin eines Hundes bei subcutaner Einverleibung der Homogentisinsäure zu untersuchen.

Ueber die angewandten Methoden kann ich mich kurz fassen. Die quantitative Bestimmung der Homogentisinsäure im Harn geschah nach der von Wolkow und Baumann ausgearbeiteten Methode, bezüglich deren Einzelheiten ich auf Baumann's Mittheilung¹⁾ verweise. Die Methode ist durchaus nicht, wie Garnier und Voirin meinen, als eine besonders delikate und zeitraubende anzusehen. Die Erkennung der Endreaction, Bildung von Chlorsilber, wird nach unseren Beobachtungen dadurch sehr erleichtert, dass die tiefbraune alkalische Flüssigkeit beim Zusatz von Salzsäure eine lichtrothe Farbe bekommt, sobald die Endreaction nahe, d. h. sobald keine oder wenig unoxydirte Substanz mehr darin vorhanden ist. Es wurde immer nur bis auf $\frac{1}{4}$ chem. der Zehntel Norm.-Silber-Lösung genau titrirt, weil für uns nur die Feststellung grösserer Schwankungen des Homogentisinsäuregehalts Interesse hatte.

Grössere Schwierigkeiten boten die Harnsäurebestimmungen. Zwar war die Wahl der passenden Methode leicht, weil bei einem Alkaptonharn alle diejenigen Methoden, bei welchen die Harnsäure als Silbersalz gefällt wird, sich von selbst verbieten. Es waren also die Verfahren nach Ludwig, Haycraft und Czapek nicht anwendbar. Das Verfahren von Arthaud und Butte bot, nach Huppert's Bemerkungen²⁾, keine genügende Garantie für Genauigkeit. Die alte Methode von Heintz leidet bekanntlich ebenfalls an Ungenauigkeit und war in unserem speciellen Falle deshalb nicht

¹⁾ E. Baumann, Ueber die Bestimmung der Homogentisinsäure im Alkaptonharn. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 16, S. 268.

²⁾ Anal. d. Harns, S. 551.

anzuwenden, weil im Harne der Alkaptonpatientin mit Salzsäure überhaupt keine Harnsäureabscheidung erfolgte¹⁾. Es blieb also nur das Verfahren von Fokker, Wägung der Harnsäure als harnsaures Ammoniak, übrig. Es wurde in der von Salkowski angegebenen Modification, genau nach dessen Vorschriften, angewandt, mit Innehaltung einiger durch die Besonderheit der Verhältnisse gebotenen Vorsichtsmassregeln. Da man nämlich den alkalisch gemachten Harn 2×24 Std. stehen lassen muss, so hätte die dabei in einem Becherglase unvermeidlich eintretende Oxydation des Alkaptons wegen der damit verbundenen Dunkelfärbung und der manchmal erfolgenden Abscheidung humusähnlicher Massen zu grossen Uebelständen geführt. Ferner unterliegt, wie unsere Erfahrungen gezeigt haben, der Alkaptonharn viel leichter als normaler Harn der ammoniakalischen Gährung, er ist ferner in weit höherem Grade als dieser der Bildung von Pilzrasen ausgesetzt; beides Factoren, die zu Unbequemlichkeiten (äusserst langsames Filtriren, Trübung des Filtrats durch Bakterien) und Fehlern (bei bedeutenderer Pilzentwicklung) führen. Es gelang, die gekennzeichneten Mängel auf einfache Weise zu vermeiden. Das Reactionsgemisch wurde in wohlverschlossenen Erlenmeyer'schen Kölbchen stehen gelassen, aus welchen der Niederschlag leicht aufs Filter gebracht werden kann. Es wurden Kölbchen gewählt, welche ca. 240 ccm. fassen, so dass über der Flüssigkeit nur wenige Cubiccentimeter Luft eingeschlossen sind. Um ferner die ammoniakalische Gährung und die Pilzentwicklung hintenzuhalten, wurde das Gemisch mit einigen Tropfen Aether durchgeschüttelt, und zwar wurde soviel Aether hinzugefügt, dass er in dünner Schicht die Flüssigkeit gegen die Luft abschloss. Damit nicht etwa der Aether die vollständige Fällung der Harnsäure beeinträchtigte, wurde derselbe erst 2—3 Stunden nach dem Salmiakzusatz hinzugefügt. Nach 2×24 Stunden wurde die Aetherschicht mit der Pipette abgehoben und im Uebrigen nach Salkowski verfahren. Bei Anwendung dieser Vorsichtsmassregeln zeigte der Harn im Kolben nur in seinen obersten Schichten eine

¹⁾ Embden, l. c., S. 190, Anm.

leichte bräunliche Verfärbung; im Uebrigen erschien er vollkommen normal und liess sich gut filtriren.

Es erübrigt der Nachweis, dass die Anwesenheit der Homogentisinsäure im Harn die Genauigkeit der Methode nicht beeinflusst. Dieser Nachweis wurde durch Parallelbestimmungen in normalem Harn geführt, so zwar, dass eine Portion (200 ccm.) ohne Zusatz, eine gleiche Portion desselben Harns nach Zusatz von reiner Homogentisinsäure untersucht wurde. Die Menge der Homogentisinsäure wurde, dem durchschnittlichen Gehalt des Alkaptonharns entsprechend, zu 0,2—0,3% gewählt. Es seien die Resultate zweier Parallelbestimmungen, mit der Correctur von Salkowski, angeführt:

	Harnsäure in	
	200 ccm. unversetztem Harn.	200 ccm. Harn mit 10 ccm. 1,4 proc. Homogentisinsäure- Lösung.
I.	0,0655 gr.	0,0606 gr.
II.	0,0700 gr.	0,0766 gr.

Aus den angeführten Zahlen ergibt sich die Anwendbarkeit der Fokker'schen Methode für den Alkaptonharn.

Die übrigen im Laufe der jetzt mitzutheilenden Untersuchungen angewandten Methoden sind die allgemein üblichen

Quantitative Versuche über die Alkaptonausscheidung bei gemischter Kost, bei Zufuhr von Tyrosin, Phenylessigsäure und Phenylamidoessigsäure.

I. Normale Verhältnisse.

Ueber die normalen Verhältnisse der Homogentisinsäureausscheidung gibt Tabelle I auf Seite 9 Aufschluss.

Aus derselben geht hervor, dass unsere Patientin bei gemischter Kost und einer durchschnittlichen täglichen Harnmenge von 1200 ccm. täglich im Durchschnitt 3,2 gr. Homogentisinsäure (entsprechend 8,39 gr. Silber¹⁾) ausscheidet. Bei

¹⁾ S. Baumann, l. c., S. 270.

Tabelle I.

Datum.	Harn- menge.	Spec. Gew.	Reduction		Reaction.	Bemerkungen.
			in chem. 1 ₁₀ Norm.- Ag-Lösgg. und 10 chem. Harn.	in gr. Ag. berechnet für die Tages- menge.		
7. XI.	1000	1,020	8,75	9,44	sauer	Die Kranke erhält an allen diesen Tagen ge- wöhnliche gemischte Kost.
9. XI.	1020	1,015	6,5	7,15	stark sauer	
10. XI.	1100	1,016	6,5	7,71	sauer	
15. XI.	2570	1,013	6,75	9,47	stark sauer	Acidität: 100 chem. Harn = 11,0 chem. 1 ₁₀ Norm.- Kalilauge.
16. XI.				9,47	—	
18. XI.	1100	1,018	9,25	10,97	sauer	Acidität: 100 chem. Harn = 10 chem. 1 ₁₀ Norm.- Kalilauge.
19. XI.	1200	1,014	6,25	7,78	alkalisch	Leichter Blasenkatarrh.
20. XI.	1290	1,016	6,75	9,40	alkalisch	Ebenso.
21. XI.	1400	1,015	5,0	7,55	alkalisch	Ebenso.
22. XI.	1425	1,011	4,0	6,13	alkalisch	Trübung des Urins ge- ringer.
24. XI.	1040	1,014	7,25	8,14	stark sauer	Acidität: 100 chem. Harn = 17 chem. 1 ₁₀ Norm.- KOH.
25. XI.	1400	1,014	7,0	10,57	stark sauer	Acidität: 100 chem. Harn = 16 chem. 1 ₁₀ Norm.- KOH.
2. XII.	1000	1,019	8,0	8,63	sauer	Entspricht einer durch- schnittl. tägl. Ausschei- dung von 3,20 gr. Ho- mogentinsäure. Durchschnittlicher Gehalt des Harns 0,265 %.
3. XII.	1500	1,015	6,75	10,83	stark sauer	
9. XII.	1400	1,017	7,25	10,95	sauer	
10. XII.	1200	1,014	5,75	6,33	stark sauer	
11. XII.	1450	1,016	7,75	12,12	sauer	
15. XII.	1100	1,015	6,5	7,72	sauer	
20. XII.	3300	1,012	4,5	7,90	sauer	
21. XII.				7,90		
11. XI.	1050	1,017	7,5	8,50	stark sauer	
Mittel aus 22 Tagen	1207	—	—	8,39	—	

dem Bruder unserer Patientin fanden Wolkow und Baumann unter den gleichen Bedingungen und bei einer durchschnittlichen Harnmenge von 2030 ccm. eine durchschnittliche Reduction von 12,7 gr. Silber entsprechend einer Tagesausscheidung von 4,84 gr. der Säure¹⁾. Es könnte scheinen, dass der oben gekennzeichnete Unterschied bedingt sei durch die Schwierigkeit, bei einer Frau die Tagesmenge des Urins vollständig, ohne Verluste bei der Defäcation, zu gewinnen. Wir haben diesem Punkte besondere Aufmerksamkeit geschenkt und können das angeführte Bedenken mit folgenden Gründen entkräften: Erstens war an Tagen, an welchen, wie es bisweilen vorkam, eine Defäcation nicht stattfand, die Urinmenge nicht grösser als sonst; zweitens waren den häufig untersuchten Fäces niemals sichtbare Urinquantitäten beigemischt und niemals konnte Homogentisinsäure im Aetherextract der Fäces nachgewiesen werden. Unsere Patientin, die recht intelligent und unseren Bestrebungen gegenüber sehr entgegenkommend war, entleerte vor jeder Defäcation ihre Blase, was ihr bisweilen selbst dann gelang, wenn diarrhoischer Stuhl vorhanden war. Ging einmal bei der Defäcation Harn verloren, so wurden die Ergebnisse der Untersuchung nicht quantitativ verwerthet. Es ergeben sich daraus manche Lücken in unseren Versuchsreihen, so dass durch das weibliche Geschlecht unserer Patientin wohl Unbequemlichkeiten aber keine Fehlerquellen bedingt wurden. Wir glauben, dass die in Rede stehende Differenz in den ausgeschiedenen Alkaptonquantitäten sich leicht aus dem Umstande erklärt, dass unsere Patientin überhaupt nicht reichlich Nahrung zu sich nahm und dass sie, den Gewohnheiten der Schwarzwaldbevölkerung entsprechend, die vegetabilischen Bestandtheile ihrer Kostportionen bevorzugte. Nun haben Wolkow und Baumann zur Evidenz gezeigt, wie wesentlich die Quantität der ausgeschiedenen Homogentisinsäure durch die Art der Ernährung beeinflusst wird: gaben sie nämlich statt der gemischten Kost Fleischdiät, so stieg die Alkaptonmenge fast auf das Doppelte. Wir glauben, diese Verhältnisse, wie oben geschehen, zur Erklärung der in Rede

¹⁾ Wolkow und Baumann, I. c., S. 271.

stehenden Differenz heranziehen zu dürfen, zumal man, sollte jene Differenz wirklich aus Verlusten beim Sammeln des Urins resultiren, weil grössere Schwankungen in der täglich gemessenen Menge erwarten müßte, als sie in Tabelle I verzeichnet stehen. Auch entsprach dem reichlicheren Urin des Bruders durchweg ein um ca. 0,005 niedrigeres spec. Gew., als es dem Urin der Schwester zukam, der gewöhnlich über 1,015 zeigte.

Wir dürfen also als sichergestellt ansehen, dass in dem Urin unserer Patientin täglich durchschnittlich 1,64 gr. Homogentisinsäure weniger enthalten sind, als in dem von Wolkow und Baumann untersuchten Harn. Dieser Umstand fällt bei der Beurtheilung des im nächsten Abschnitte mitzutheilenden Versuches ins Gewicht.

II. Alkaptonausscheidung bei Zufuhr von Tyrosin.

Tabelle II.

Datum.	Harnmenge.	Spec. Gew.	Reaction.	Reduction		Bemerkungen.
				in cem. $\frac{1}{10}$ Norm. Ag-Lösg. für 10 cem. Harn.	in gr. Ag berechnet für die Tagesmenge.	
9. XI. 91.	1020	1,020	stark sauer	6,50	7,15	
10. XI. 91.	1100	1,016	sauer	6,50	7,71	
11. XI. 91.	1050	1,017	stark sauer	7,50	8,50	Im Laufe des Vormittags 15 gr. Tyrosin.
12. XI. 91.	1630	1,015	stark sauer	12,25	21,54	Acidität: 100 cem. Harn = 23,5 cem. $\frac{1}{10}$ Norm.-KOH.
13. XI. 91.	1010	1,020	stark sauer	8,5	9,25	Viel Phenol.
14. XI. 91.	1200	1,015	stark sauer	7,5	9,71	Acidität: 100 cem. Harn = 19 cem. $\frac{1}{10}$ Norm.-KOH.
15. XI. 91.	2570	1,013	stark sauer	6,75	9,47	Acidität: 100 cem. Harn = 11 cem. $\frac{1}{10}$ Norm.-KOH.
16. XI. 91.				6,75	9,47	NB. Der Harn hatte z. Theil 24 Stunden gestanden.

Tabelle III.

	Reduction der Tagesmenge Harn		Zunahme der Homogentisin- säure in gr.
	in gr. Ag.	auf Homogen- tisin säure berechnet.	
Mittel aus 22 Tagen bei ge- mischter Kost	8,39	3,20	—
Nach 15 gr. Tyrosin . . .	21,54	8,21	5,01

Das Ergebniss des Tyrosinversuchs ist in den Tabellen II und III niedergelegt. Es erhellt eine beträchtliche, über 100% betragende Vermehrung der Homogentisinsäureausscheidung am ersten Tage nach der Zufuhr von 15 gr. Tyrosin. An den folgenden Tagen ist die Alkaptonmenge noch etwas über die Norm erhöht, wie dies auch von Wolkow und Baumann beobachtet wurde. Die sich am ersten Tage geltend machende Aciditätserhöhung klingt ebenfalls allmählig ab. — Durch den hier beschriebenen Versuch ist die principielle Uebereinstimmung des von uns untersuchten Falles von Alkaptonurie mit dem von Wolkow und Baumann in allen Punkten erwiesen. Die von jenen Autoren dort angestellten, weiter oben kurz berührten theoretischen Ueberlegungen gelten auch hier.

Die quantitativen Verhältnisse freilich gestalten sich in beiden Fällen recht verschieden. Während nämlich Wolkow und Baumann¹⁾ einer Zufuhr von 10 gr. Tyrosin eine Zunahme der Säure um 6,9 gr., ein anderes Mal einer Tyrosinzufuhr von 11,5 gr. sogar eine Vermehrung des Alkaptons um 9,4 gr. folgen sahen, stieg in unserm Fall nach Einführung von 15 gr. der Muttersubstanz die Homogentisinsäureausscheidung nur um 5,01 gr. Während also dort eine nahezu quantitative Umwandlung des Tyrosins stattfand, haben wir nur einen kleinen Theil der eingeführten Substanz in Homogentisinsäure übergehen sehen.

Die weitere Untersuchung des Urins und der Fäces gab uns Aufklärung über dies Verhalten. Am zweiten Tage nach

¹⁾ L. c., S. 269.

der Tyrosineingabe zeigten sich nämlich im Destillat des Harns bei der Prüfung mit Bromwasser sehr reichliche Phenolmengen. Diese Beobachtung veranlasste eine Bestimmung der Aetherschwefelsäuren des Harns. Wie weiter unten mit Zahlen belegt werden wird, zeigte die Aetherschwefelsäureausscheidung unserer Patientin, in Uebereinstimmung mit dem von Wolkow und Baumann beobachteten, für gewöhnlich nichts abnormes. An dem genannten Tage aber stieg die Menge der gepaarten Schwefelsäure auf das Doppelte des normalen; das Verhältniss A:B wurde 4,5.

Schwefelsäure in 50 chem. Harn ¹⁾ als BaSO ₄		Schwefelsäure in der Tagesmenge als H ₂ SO ₄		A B
A.	B.	A.	B.	
0,2097	0,0461	1,7800	0,3913	4,5

Leider wurde an den folgenden Tagen die Schwefelsäurebestimmung nicht wiederholt, dagegen schon 2 Tage später (15. XI. 91) constatirt, dass im Destillat des Harns mit Bromwasser kein Niederschlag mehr entstand. Wir dürfen daher wohl annehmen, dass die Ausscheidung der Phenole etwa in derselben Curve abgefallen ist, wie die der Homogentisinsäure.

Es unterlag keinem Zweifel, dass die Vermehrung der Harnphenole auf die Zufuhr des Tyrosins und dessen Spaltung durch die Darmfäulniss zurückzuführen sei. Die Untersuchung der ersten nach der Tyrosinzufuhr entleerten Fäces lieferte die Bestätigung; es gelang, in denselben eine kleine Menge Tyrosin nachzuweisen, woraus mit Sicherheit folgte, dass grössere Mengen des Körpers in das Bereich der Fäulniss-erreger gekommen waren.

Die Fäces wurden nach Ansäuerung mit verdünnter Schwefelsäure mit Aether extrahirt, das Extract mit negativem Ergebniss auf Homogentisinsäure untersucht. Von den extrahirten Fäces wurde der Aether abdestillirt, der Rückstand mit neutralem Bleiacetat gefällt, filtrirt, das Filtrat entbleit, zum dünnen Syrup eingedampft und in einer Krystallisirschale

¹⁾ Vom 13. XI. 91.



stehen gelassen. Es schied sich eine schmierige Masse ohne Spuren von Krystallisation ab. Nunmehr wurde in verdünntem Ammoniak gelöst, abfiltrirt, das Filtrat verdunstet. Es blieb jetzt eine sehr geringe Menge einer undeutlich krystallinischen bräunlich-gelben Substanz zurück, welche deutlich die Milon'sche Reaction gab, also als Tyrosin anzusehen ist.

Wir sehen jetzt einen Grund der mangelhaften Alkaptonisirung des Tyrosins darin, dass es in grösserer Quantität Fäulnissprocessen anheimgefallen ist. Weiterhin wird das Verständniss unseres Versuchsergebnisses durch eine von Wolkow und Baumann¹⁾ gelegentlich eines noch zu erwähnenden Thierversuches aufgestellte Hypothese gefördert. Wir meinen die Ansicht, dass die Alkaptonbildung nur in den obersten fäulnissfreien Theilen des Darmkanals erfolge, dass das Tyrosin also, sobald es in die Region der Fäulnissprocesse gelangt ist, der Alkaptonbildung entzogen wird. Man kann in den eben mitgetheilten Versuchsergebnissen eine Stütze der eben skizzirten Hypothese sehen.

Den verschiedenen Ausfall des Tyrosinversuchs bei den Geschwistern kann man sich dann durch die Annahme einer gewissen Insufficienz der alkaptonbildenden Kräfte innerhalb der Strecke ihrer Wirksamkeit bei der Frau erklären. Diese Annahme ist im Einklang mit der oben nachgewiesenen dauernd geringeren Alkaptonproduction der Schwester.

III. Alkaptonausscheidung bei Zufuhr von Phenyl-essigsäure und Phenylamidoessigsäure.

(Siehe Tabelle IV auf Seite 15.)

Wolkow und Baumann²⁾ haben darauf hingewiesen, dass im Organismus der Alkaptonpatienten als Muttersubstanz der Homogentisinsäure neben dem Tyrosin noch die Phenylamidopropionsäure in Betracht komme. Von diesem Körper standen uns zu einem Versuche ausreichende Mengen nicht zur Verfügung. Dagegen haben wir die Alkaptonausscheidung nach Zufuhr von Phenyllessigsäure und von Phenylamidoessig-

¹⁾ L. c., S. 285.

²⁾ L. c., S. 266.

säure untersucht. Zwar ist nur für die Phenyllessigsäure die Entstehung bei der Eiweissfäulniss durch Salkowski nachgewiesen worden: nur sie konnte mithin möglicherweise neben dem Tyrosin als Mottersubstanz der von den Alkaptonpatienten ausgeschiedenen Homogentisinsäure eine Rolle spielen. Indessen enthält auch die Phenylamidoessigsäure den ganzen Rest, welcher in die Homogentisinsäure aus dem Tyrosin übergeht; sie steht letzterem vermöge ihrer Amidogruppe noch näher als die Phenyllessigsäure. Es war also theoretisch wohl denkbar, dass die untersuchte Substanz, in den Organismus der Alkaptonpatientin eingeführt, ebenso wie die letztgenannte Säure als Alkaptonbildner fungiren könnte. Wie ein Blick auf die

Tabelle IV.

Datum.	Harnmenge.	Spec. Gew.	Reaction.	Reduction.		Bemerkungen.
				in ebem. in Norm.-Ag-Lösg. für 10 ebem. Harn.	berechnet für gr. Ag pro die.	
24. XI. 91.	1040	1,014	stark sauer	7,25	8,14	
25. XI. >	1400	1,014	stark sauer	7,0	10,57	8 gr. Phenyllessigsäure mit 4 gr. Natr.-bicarb. und 20 gr. Zucker im Laufe des Vorm.
26. XI. >	1700	1,015	sauer	5,25	9,63	Sulfate: $\frac{A}{B} = 13,4$.
27. XI. >	1000	1,019	stark sauer	8,5	9,17	
28. XI. >	1500	1,014	sauer	5,0	8,09	8 gr. Phenyllessigsäure wie oben.
29. XI. >	2800	1,015	stark sauer	6,5	9,81	
30. XI. >					9,81	
10. XII. >	1200	1,014	stark sauer	5,75	6,33	
11. XII. >	1450	1,016	sauer	7,75	12,12	10 gr. Phenylamidoessigsäure.
12. XII. >	1600	1,012	sauer	5,5	9,5	
13. XII. >	2100	1,017	sauer	7,75	8,78	
14. XII. >					8,78	

Tabelle IV zeigt, vermochten wir dies für keine der beiden Substanzen nachzuweisen. Die Alkaptonausscheidung wurde

durch die Zufuhr von Phenylessigsäure und Phenylamidoessigsäure in keiner Weise beeinflusst¹⁾).

Es scheint aus dem Versuche hervorzugehen, dass die Reduction der Para-Hydroxylgruppe ein integrierendes Moment des zur Homogentisinsäurebildung führenden Processes darstellt. Deshalb liegt die Vermuthung nahe, dass Versuche mit der α -Amidophenylpropionsäure ebenfalls ein negatives Ergebniss haben werden. Zur Aufklärung der in Rede stehenden Prozesse wären solche Versuche sehr wünschenswerth.

Versuche über die Alkaptonausscheidung bei Anwendung von Mitteln, welche die Fäulnis- und Gährungsprocesse im Darmkanal beschränken.

I. Ueber die Alkaptonausscheidung bei Darreichung von Terpentinöl.

Tabelle V.

Datum.	Harnmenge.	Spec. Gew.	Reaction.	Reduction.		Bemerkungen.
				in ebem. 10 Norm. Ag-Lösg. für 10 ebem. Harn.	in gr. Ag berechnet für die Tagesmenge.	
11. X. 91.	1100	1,020	stark sauer	6,5	7,71	
12. X. »	ca. 1000	1,014	sauer	5,5	5,93	Im Laufe des Tages 3 gr. Terpentinöl.
13. X. »	1120	1,014	stark sauer	4,75	5,74	5 gr. Terpentinöl w. o.
14. X. »	1000?	1,024	schw. sauer	6,5	7,09	6 gr. Terpentinöl.
15. X. »	1415	1,014	stark sauer	4,0	6,10	4 gr. Terpentinöl.
16. X. »	1270	1,014	schw. sauer	4,0	5,48	5 gr. Terpentinöl.
17. X. »	1480	1,017	sauer	5,25	8,49	5 gr. Terpentinöl.
18. X. »	950?	1,017	stark sauer	5,0	5,24	Versuch unterbrochen.

¹⁾ Die Art der Ausscheidung der Phenylessigsäure wurde nicht weiter verfolgt. Vgl. Salkowski, E. u. H. Ber. 12, S. 653; D. Zeitschr., Bd. 7, S. 162; Bd. 9, S. 229. Hotter (cit. nach Huppert, Anal. S. 139) Journal für prakt. Chem., [2], Bd. 38, S. 117.

Tabelle VI.

	Reduction	
	der Tagesmenge Harn in gr. Ag.	der Tagesmenge Harn berechnet in gr. Homogentisinsäure.
Mittel aus 6 Tagen mit Terpentinöl .	6,36	2,44
Mittel aus 2 Tagen ohne Terpentinöl im Hause der Pat.	6,82	2,60
Mittel aus 22 Tagen bei gem. Kost im Hospital	8,39	3,20

Wir wenden uns nunmehr den Versuchen zu, die Homogentisinsäureausscheidung durch die Anwendung von Mitteln zu beschränken, welche die Fäulnis- und Gährungsprocesse des Darmes herabsetzen. Bei der Wahl dieser Mittel leiteten uns vor allem die Erfahrungen, welche Rovighi¹⁾ bei seinen Untersuchungen über die Aetherschweifelsäureausscheidung beim Menschen gewonnen hatte. Das erste Mittel, welches versucht wurde, war das Terpentinöl, das nach Rovighi in Gaben von mehreren Granum täglich die Aetherschweifelsäureausscheidung auf $\frac{1}{4}$ der Norm herabsetzt. Zu einem Versuche an der Alkaptonpatientin bewog uns vor allen Dingen die hemmende Wirkung, welche das Terpentinöl auf die weingeistige Gährung ausübt. Wir konnten diese Wirkung schon constatiren, wenn mit der über Quecksilber befindlichen, mit Hefe versetzten Zuckerlösung nur wenige Tropfen Terpentinöl durchgeschüttelt waren. Während die Controlröhre binnen Kurzem ganz mit Kohlensäure erfüllt war, trat in der terpenenthaltigen Flüssigkeit nur zuerst eine schwache CO₂-Entwicklung auf, die immer spärlicher werdend nach 24 Std. fast gänzlich sistirte. Da wir ja von der Hypothese von Wolkow und Baumann ausgingen, es handle sich bei der Alkaptonurie um abnorme Gährungsvorgänge im Darmkanal, so musste das Terpentinöl als besonders geeignet erscheinen, die Alkaptonbildung zu beschränken. Leider geben die Ver-

¹⁾ Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 16, S. 20ff.

suche, deren zahlenmässiges Ergebniss aus Tabelle 5 und 6 zu ersehen ist, kein ganz unzweideutiges Resultat. Der Terpentinentersuchung musste nämlich aus äusseren Gründen in der Wohnung der Patientin, die in einem kleinen Hochthal des Schwarzwaldes gelegen ist, durchgeführt werden. Dabei waren Verluste an Urin kaum zu vermeiden. Es war ferner unmöglich, die von Rovighi constatirte Beeinflussung der Fäulnisprocesse an unserm Fall zu verfolgen, da mir ein Laboratorium nicht zur Verfügung stand. Die Homogenisäurebestimmung führte ich in der Apotheke des Herrn Apotheker Himmelscher in Neustadt¹⁾ aus, nachdem ich in der von dort 2 Stunden entfernten Wohnung der Patientin die von dieser gesammelte Tagesmenge des Harns gemessen hatte.

Die erhaltenen, in Tabelle 5 und 6 angeführten Reductionswerthe sind erheblich niedriger, als die später bei dem Aufenthalt in der Freiburger Klinik gefundenen. Indessen haben sich schon vor der Terpentingabe sehr niedrige Zahlen ergeben; man dürfte daher mit der Annahme nicht fehlgehen, der geringe Alkaptongehalt des Harns sei zum grössten Theil auf die, wie ich mich überzeuete, ausserordentlich eiweissarme häusliche Kost der Patientin, in welcher insbesondere Fleisch nur an Sonntagen figurirte, zurückzuführen. Ob ausserdem das Terpentinöl eine Wirkung in der in Frage stehenden Richtung geübt hat, wage ich nicht zu entscheiden. Jedenfalls liegt in den mitgetheilten Zahlen eine Aufforderung, den Versuch zu wiederholen.

Es sei noch erwähnt, dass die angewandten Terpentinölgaben ohne jede Beschwerde vertragen wurden. Die natürlich mit grösster Sorgfalt täglich ausgeführte Untersuchung des Harns auf Eiweiss hatte stets ein negatives Ergebniss.

¹⁾ Ich spreche Herrn Apotheker Himmelscher auch an dieser Stelle meinen Dank für sein freundliches Entgegenkommen aus. Ebenso benutze ich die Gelegenheit, dem Hausarzte der Alkaptonpatientin, Herrn Medizinalrath A. Bürkle, Grossherzogl. Bezirksarzt in Neustadt, für die liebenswürdige und erfolgreiche Unterstützung, die wir ihm verdanken, meinen besten Dank auszudrücken.

II. Ueber die Alkaptonausscheidung bei Darreichung von Kefyr und nach dem Gebrauch von Ricinusöl.

(Siehe Tabelle 7 auf Seite 19.)

Unter weit günstigeren äusseren Bedingungen, als die Terpentinversuche, konnten die übrigen unter denselben Gesichtspunkten in Angriff genommenen Untersuchungen durchgeführt werden, als die Alkaptonpatientin durch die Güte des Herrn Geh. Rath Prof. Dr. Bäumlcr Aufnahme in das klinische Hospital gefunden hatte. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 7 zusammengestellt. — Auf der durch Rovighi und Andere festgestellten Thatsache fussend, dass bei der Zufuhr von Kefyr eine bedeutende Herabminderung der Darmfäulniss eintritt¹⁾, untersuchten wir, ob bei dem Gebrauche desselben Mittels eine Verminderung der Alkaptonausscheidung zu constatiren sei. Während der Dauer des Versuches — Pat. nahm täglich etwa 1 Liter Kefyr zu sich — wurde die Darmfäulniss durch fortlaufende Schwefelsäurebestimmungen im Harn controlirt. Dabei konnten wir an unserem Falle die fäulnisshemmende Wirkung des Kefyrs in schlagender Weise bestätigen, wie ein Blick auf Reihe 10 und 11 der Tabelle 7 zeigt. Wir haben zum Vergleich die Schwefelsäureausscheidung der Alkaptonpatientin unter normalen Ernährungsverhältnissen in Tabelle 8 dargestellt. Be-

Tabelle VIII.

Datum.	Menge.	Schwefelsäure in 50 cem. Harn als BaSO ₄ .		Schwefelsäure in der Tagesmenge als H ₂ SO ₄ .		$\frac{A}{B}$
		A.	B.	A.	B.	
18. XI. 91.	1100	0,22715	0,01415	2,0893	0,1306	16,1
19. XI. 91.	1200	0,1773	0,0145	1,7907	0,1465	12,2
24. XI. 91.	1040	0,1842	0,0116	1,5825	0,1009	15,8

¹⁾ Dass Milchdiät ebenfalls in dieser Richtung wirkt, geht aus den interessanten Versuchen von Winternitz (Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 16, S. 460) hervor. Vergl. auch Schmitz, ebendas., Bd. 17, S. 401, und Biernacki, deutsches Archiv für klin. Medicin, Bd II, 1. Heft.

Tabelle IX.

Mittlere Tagesmengen der Aetherschweifelsäuren in gr. H_2SO_4 .	
Unter normalen Ver- hältnissen. Tab. 8.	Bei Kefyrdarreichg. Tab. 7.
0,1260	0,0942

sonders deutlich tritt die Wirkung des Kefyrs zu Tage, wenn man, wie dies in Tabelle 9 geschehen ist, die durchschnittlichen Tagesmengen der gebundenen Schwefelsäure mit einander vergleicht. Während nun die Eiweissfäulniss unter dem Kefyrgebrauche dauernd beschränkt erschien, lief, wie Reihe 5 und 6 der Tabelle 7 zeigen, der durch die Stationen Eiweiss — Tyrosin — Homogentisinsäure gekennzeichnete Process in unverminderter Intensität fort. Es ergibt sich sogar bei der Berechnung der durchschnittlichen Tagesmenge des ausgeschiedenen Alkaptons ein geringes Plus gegenüber der in Tabelle 1 berechneten Durchschnittsmenge unter gewöhnlichen Verhältnissen — (3,42 gr. — 3,20 gr.).

Wir reihen gleich die Besprechung der Verhältnisse nach Darreichung von Ricinusöl an, deren zahlenmässige Darstellung ebenfalls auf Tabelle 7 Platz gefunden hat. Die Darreichung des Abführmittels geschah in doppelter Absicht: Einmal konnte man bei der durch das Mittel hervorgerufenen Beschleunigung der Peristaltik hoffen, Homogentisinsäure in den Fäces, in welchen sie bis dahin stets vermisst wurde, nachzuweisen und so ihre Entstehung im Darne ad oculos zu demonstrieren. Andererseits durfte man, weil eine Resorption der Homogentisinsäure nur in den oberen Darmabschnitten stattfindet (Wolkow und Baumann), erwarten, dass bei der raschen Fortbewegung des Darminhalts soviel Alkapton der Resorption entzogen werde, dass der Harn nachweisbar daran verarmte. Die in Tabelle 7 ersichtlichen Zahlen täuschten die gehegte Erwartung. Zwar trat bei dem ersten Oelversuche ein Rückgang der am Tage zuvor abnorm hohen Reduktionszahl ein; doch bewegte sich derselbe nur ganz unerheblich unter die durchschnittliche Höhe hinunter. Beim zweiten Versuch blieb nach der Oel-

gabe der Reductionswerth auf derselben mittleren Höhe, die er am Tage zuvor inne hatte. Ein Einfluss des Abführmittels, dessen kräftige Wirkung aus den in der Tabelle verzeichneten Daten hervorgeht, ist somit nicht zu constatiren.

Ebenso ergab die Untersuchung der Stühle nach der oben erwähnten Methode ein negatives Resultat.

Wir fassen das Ergebniss der im vorstehenden Abschnitte mitgetheilten Versuche in den Satz zusammen, dass es nicht gelungen ist, durch Mittel, welche die Fäulnis- und Gährungsprocesse im Darne beschränken, die Alkaptonausscheidung herabzusetzen. Wir haben also den angestrebten Beweis nicht zu erbringen vermocht, dass die Homogentisinsäure im Darne gebildet wird. Der Ausfall des Kefyrversuchs mit seiner bedeutenden Beschränkung der Fäulnisprocesse bei constant bleibender Alkaptonausscheidung könnte im Gegentheil bei oberflächlicher Betrachtung als Beweis gegen die Entstehung der Homogentisinsäure durch pilzliche Lebensprocesse angesehen werden. Die Unzulässigkeit dieser Deutung der That-sachen ergibt sich daraus, dass wir von vorneherein gar nicht beurtheilen können, wie der Kefyr auf die hypothetischen Organismen und ihre specifische Thätigkeit einwirkt. Der Kefyr stellt ja durchaus nicht ein «Antisepticum» im Sinne der Bacteriologen und Chirurgen dar, welches ohne Wahl alle Mikroorganismen des Darms vernichtet, oder auch nur alle in ihren Lebensprocessen beeinträchtigt. Nur für die eigentlichen, mit Phenol- und Indolbildung einhergehenden Fäulnisprocesse ist eine solche Wirkung des Kefyrs nachgewiesen. Der ganze Kefyrversuch ergibt mit Sicherheit also nur die vollständige Unabhängigkeit der Alkaptonbildung von den Fäulnisprocessen, wie sie durch andere That-sachen schon wahrscheinlich gemacht war.

Eher könnte man versucht sein, die Ergebnisse des Ricinusölversuchs gegen die Richtigkeit der Hypothese von Wolkow und Baumann anzuführen. Zwar ist das Fehlen der Homogentisinsäure in den Stühlen durch die von Wolkow

und Baumann nachgewiesene Zersetzung des Alkaptons in den unteren Darmabschnitten zur Genüge erklärt. Dagegen erscheint es nach den oben angeführten Ueberlegungen sehr auffällig, dass keine Verminderung der im Harn ausgeschiedenen Menge zu constatiren war. Einige Aufklärung in dieser Richtung gibt die bemerkenswerthe Thatsache, dass wir nach beiden Oelgaben eine Verminderung der Aetherschwefelsäuren des Harns eintreten sahen. (Morax und Bartoschewitsch fanden dagegen beim Gesunden nach Ricinusöl eine Verkleinerung des Quotienten A/B.) Da nun die bei der Darmfäulniss entstehenden Zersetzungsproducte der Homogentisinsäure (Toluhydrochinon, Wolkow und Baumann) mit Schwefelsäure gepaart im Urin auftreten, so kann man aus unseren Zahlen mit Sicherheit folgern, dass bei dem Oelversuche grössere Mengen von Homogentisinsäure jedenfalls nicht der Fäulniss anheimgefallen sind. Damit wird dem in Rede stehenden Versuche eine strikte Beweiskraft, in der uns interessirenden Richtung, genommen.

Ueber das Verhalten der Homogentisinsäure im Organismus der Frau bei Darreichung derselben per os.

Tabelle X.

Datum.	Menge	Spec. Gew.	Reaction.	Reduction		Schwefelsäure als BaSO ₄ in 50 ccm. Harn.		A B	Bemerkungen
				in chem. $\frac{1}{10}$ Norm.-Ag.-Lösg. für 10 ccm. Harn.	berechnet in gr. Ag für die Tagesmenge.	A.	B.		
27. I. 92	—	—	—	—	—	—	—	—	Im Laufe des Tages 10 gr. Homogentisinsäure.
28. I. 92.	1528	1,014	stark sauer	10,5	17,27	0,1292	0,0111	11,6	
29. I. 92.	1500	1,013	stark sauer	9,75	15,7	—	—	—	
30. I. 92.	1600	1,010	stark sauer	4,75	8,20	—	—	—	

Tabelle XI.

	Reductionswerth von 2 Tagesmengen in gr. Ag.	Reductionswerth von 2 Tagesmengen berechnet in gr. Homogentisins.
Unter normalen Verhältnissen durch- schnittlich	16,78	6,40
Beobachtet nach Einfuhr von 10 gr. Alkapton.	32,97	13,9
Mehrausscheidung nach Einfuhr von 10 gr. Homogentisins.	—	7,50

Die Frau erhielt im Laufe eines Tages 10 gr. Homogentisinsäure, welche mit viel Zucker in ca. 1500 ccm. Wasser gelöst war. Sie nahm die Säure in häufigen kleinen Quantitäten zu sich, womit eine Nachahmung der unter natürlichen Verhältnissen sich vollziehenden stetigen Bildung der Substanz bezweckt wurde. Das Resultat des Versuchs geht aus Tabelle 10 und 11 deutlich hervor: es wurden 75 % der eingeführten Säure wieder ausgeschieden. Der Rest scheint, wie die Aetherschwefelsäurebestimmung ergibt, welche normale Werthe zeigt, nicht durch die Darmfäulniss, sondern durch die Oxydationsprocesse in den Geweben zerstört worden zu sein. — Der Verlauf des Versuches lässt kein Moment erkennen, das in einem Widerspruch mit der Hypothese von Wolkow und Baumann stände.

Ueber den Harnsäuregehalt des Alkaptonharns.

Tabelle XII.

Datum.	Menge.	Spec. Gew.	Reaction.	Harnsäure.	
				Gewogen in 200 ccm. Harn in gr.	Berechnet auf die Tagesmenge in gr.
15. I. 92.	1500	1,011	sauer	0,005	0,0375
16. I. 92.	1200	1,013	sauer	0,0095	0,0570
17. I. 92.	2600	1,013	stark sauer	0,0098	0,0637
18. I. 92.					0,0637
19. I. 92.	1250	1,014	stark sauer	0,004	0,0248

Schon Wolkow und Baumann war der Umstand aufgefallen, dass beim Ansäuern des Urins, zwecks Darstellung

der Homogentisinsäure, niemals Harnsäurekrystalle ausfielen¹⁾. Diese Beobachtung, sowie die Angabe von Mörner, dass die Harnsäure bei der Reductionsbestimmung Fehler verursache, wurden zum Ausgangspunkt unserer Versuche. In der ersten Mittheilung wurde bereits erwähnt, dass durch Salzsäure im Alkaptonharn niemals eine Ausfällung von Harnsäure erzielt wurde, wogegen deren Abscheidung aus normalem Urin, welchem Homogentisinsäure oder Alkaptonharn zugesetzt wurde, in normaler Weise vor sich ging. Um zu untersuchen, ob überhaupt Harnsäure im Alkaptonharn vorhanden sei, wurden 200 ccm. des Harns eingedampft und mit absolutem Alkohol extrahirt (3 Mal). Der Rückstand, mit verdünnter Salzsäure digerirt und 24 Stunden stehen gelassen, zeigte mikroskopische Nadeln und gab die Murexidreaction. Es war also Harnsäure in dem Harn vorhanden. — Es gelang, dieselbe nach den Fokker'schen Verfahren, mit den oben erwähnten Vorsichtsmaßregeln quantitativ zu bestimmen. Dass die dabei gewogene Substanz Harnsäure sei, wurde durch die Murexidprobe bestätigt, ihre Reinheit von anorganischen Verunreinigungen durch die Veraschung sichergestellt. Die gewonnenen Resultate sind in Tabelle 12 zusammengestellt: ein Blick auf dieselbe ergibt die abnorm niedrige Harnsäureausscheidung der Alkaptonpatientin. Allerdings sind die Zahlen ohne die von Salkowski eingeführte Correctur (0,03 gr. auf 200 ccm. Harn) berechnet worden. Es erschien uns nämlich unrationell, eine Correctur anzubringen, deren Werth den beobachteten um das 5- bis 10fache überstieg. Nimmt man an, dass in Folge dieser Vernachlässigung eines Mangels der Methode unsere Zahlen selbst 50 % zu niedrig sind, so resultiren noch immer ganz abnorm geringe Werthe. — Eine Erklärung dieser Thatsache vermögen wir nicht zu geben.

Ueber das Verhalten der Homogentisinsäure im normalen menschlichen Organismus.

Die hier kurz zu schildernden Versuche wurden besonders in der Absicht unternommen, einen eventuellen Zusammenhang

¹⁾ S. Baumann, l. c.

zwischen der Homogentisinsäure- und der Harnsäureausscheidung zu constatiren. — In der That ergab sich ein Einfluss auf das Verhalten der Harnsäure im Harn, jedoch nicht in der erwarteten Art. — Ich nahm im Laufe von 24 Stunden in derselben Weise, wie es oben bei dem Versuch an der Alkaptonpatientin geschildert wurde, 4 gr. Homogentisinsäure zu mir; der Versuch wurde 2 Tage durchgeführt. — Die Untersuchung des Urins ergab an beiden Tagen dasselbe Resultat. Der Harn unterschied sich äusserlich nicht von der Norm, er zeigte insbesondere die normale helle Farbe. — Die Prüfung der Reductionsfähigkeit gab ein durchaus negatives Resultat; auch beim Ausschütteln des angesäuerten Harns mit Aether und Untersuchung des Extracts liess sich keine Spur von Homogentisinsäure nachweisen. Die Harnsäureausscheidung aus dem mit Salzsäure angesäuerten Harn fand in normaler Weise statt. Dagegen zeigte sich, dass bei der Ausführung der Fokker'schen Methode harnsaures Ammoniak in dem durch Soda alkalisch gemachten Harn durch Salmiak auch nicht in Spuren gebildet wurde. Das benutzte Filter zeigte vor und nach Ausführung des Versuchs das gleiche Gewicht. Diese Erscheinung wurde an beiden Tagen in durchaus gleicher Weise beobachtet. Es wurde nunmehr das alkalische Filtrat — d. h. der von Phosphaten befreite Harn — mit conc. Salzsäure stark angesäuert. Nach 24 Stunden war eine Harnsäureausscheidung nicht zu constatiren. Nunmehr wurde die saure Flüssigkeit eingedampft, die saure Reaction mit kohlensaurem Natron abgestumpft und warm filtrirt. Dann wurde wieder mit Salzsäure versetzt, worauf eine ziemlich reichliche bräunliche Fällung eintrat. Der krümelige Niederschlag abfiltrirt und mit Aetheralkohol gewaschen wurde weiss und gab die Murexidreaction. Das Filtrat wurde wieder mit kohlensaurem Natron alkalisch gemacht und mit Salmiak versetzt; es trat nunmehr ein Niederschlag auf, der sich als harnsaures Ammoniak erwies.

Wir können für das eben geschilderte Verhalten des Urins eine Erklärung einstweilen nicht geben und verzichten auf eine Erörterung der Möglichkeiten, bis weitere Thatssachen vorliegen. Sicher geht aus den mitgetheilten Versuchen hervor,

dass 4 gr. Homogentisinsäure, in den Darm des normalen Menschen gebracht, keine Alkaptonausscheidung im Urin bewirken. Man darf annehmen, dass die eingeführte Menge in den Geweben zerstört wird, wie dies bei dem Versuche an der Alkaptonpatientin erörtert wurde.

Dass bei Zufuhr grösserer Mengen des Alkaptons ein Theil desselben im Urin ausgeschieden wird, lehrte ein weiterer Selbstversuch. Ich nahm am 2. VIII. 92 Morgens 9 $\frac{1}{2}$ Uhr 8 gr. Homogentisinsäure mit Zucker in ca. 1 L. Wasser gelöst, ohne die Säure zu neutralisiren. Um 11 $\frac{1}{2}$ Uhr entleerte ich 250 cem. Harn, der alle Eigenschaften des Alkaptonharns zeigte. 10 cem. desselben reducirten 14,5 cem. der Zehntel-Normal-Silberlösung. Für die 250 cem. Harn berechnet sich somit ein Gehalt von 1,09 gr. Homogentisinsäure. Ein Theil des Harns wurde angesäuert, mit Aether ausgeschüttelt und das Bleisalz auf bekannte Weise dargestellt. Es schmolz bei 215°, ist also als reines homogentisinsaures Blei anzusehen. Der weitere Verlauf des Versuchs wurde leider dadurch gestört, dass sich bei mir ein unerträglicher Tenesmus, wahrscheinlich in Folge der stark sauren Reaction des Urins, entwickelte. Ich nahm deshalb mehrere Liter Wasser zu mir und konnte in dem weiterhin entleerten sehr verdünnten Urin auch nach dem Eindampfen keine Homogentisinsäure nachweisen. Die Harnsäureausscheidung konnte unter den geschilderten Verhältnissen nicht mit Erfolg untersucht werden. Nur wurde festgestellt, dass aus dem zuerst gelassenen Alkaptonharn durch Salzsäure eine ziemlich reichliche Harnsäurefällung bewirkt wurde.

Ueber das Verhalten der Homogentisinsäure beim Hunde nach subcutaner Injection.

(Siehe Tabelle 13 auf S. 28.)

Nachdem Wolkow und Baumann constatirt hatten, dass in den Darm eines Hundes eingeführte Homogentisinsäure grösstentheils in Toluhydrochinon und Kohlensäure gespalten werde, schien es zur Aufklärung über den Ort dieser Spaltung von Interesse, das Verhalten der Substanz bei sub-

Tabelle XIII.

Datum.	Tageszeit.	Menge.	Spec. Gew.	Reaction.	Reduction			Schwefelsäure als BaSO ₄ in 50 ccm. Harn.		Schwefelsäure als H ₂ SO ₄ in der Tagesmenge.		A B	Bemerkungen.
					in chem. ¹⁰ Norm.- Ag-Lösgr. für 10 ccm. Harn.	in gr. Ag. für die Tagesmenge.	berechnet für Homogenisinsäure in gr.	A.	B.	A.	B.		
23. IX. 91.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Von heute ab erhält der Hund täglich ein Kilo Pferdefleisch.
26. IX. »	9 h. Morg.	710	1,040	schwach sauer	—	—	—	0,4764	0,0460	2,9060	0,2806	10,3	
27. IX. »	9 h. Morg.	670	1,038	schwach sauer	—	—	—	0,5049	0,0513	2,8274	0,2873	9,8	
28. IX. »	9 h. Morg.	576	1,046	alkalisch	—	—	—	0,6270	0,0670	3,0096	0,3216	9,4	12 $\frac{1}{2}$ Uhr 5,65 gr. Homo- genisinsäure-substant.
28. IX. »	2 $\frac{3}{4}$ h. N.-M.	205	1,044	stark sauer	7,5	4,77	1,82	0,6311	0,0995	—	—	6,3	Harn reducirt Silberlö- sung in der Kälte nach etwa 2 Min.
29. IX. »	9 h. Morg.	384	1,047	stark sauer	7,5	—	—	0,5164	0,0728	2,7254	0,4022	7,1	A — 6,8, Urin sehr dunkel. B
30. IX. »	9 h. Morg.	470	1,045	stark sauer	—	—	—	0,6668	0,0496	2,6592	0,1984	13,4	Reducirt nach ca. 1 Min.
1. X. »	9 h. Morg.	470	1,040	stark sauer	—	—	—	0,6196	0,0768	2,4784	0,3072	8,0	Keine Reduction nach- weisbar.
2. X. »	9 h. Morg.	624	1,043	sauer	—	—	—	0,6776	0,0539	3,5235	0,2803	12,6	

cutaner Einverleibung kennen zu lernen. Ueber den Verlauf des in dieser Richtung unternommenen Versuches s. Tab. 13. — Die Application der Säure wurde in der Weise vorgenommen, dass 10 gr. reines wasserhaltiges homogentisinsäures Blei in möglichst wenig Wasser zertheilt mit Schwefelwasserstoff zerlegt wurden. Das Schwefelblei wurde abfiltrirt, das Filtrat durch einen Kohlensäurestrom vom Schwefelwasserstoff befreit und sorgfältig durch Eintragen von kohlensaurem Natron neutralisirt; die Lösung färbte sich beim Neutralisiren tiefbraun und hatte schliesslich ein Volum von ca. 20 ccm. bei einem Gehalt von 5,65 gr. Homogentisinsäure. Die Lösung wurde dem Versuchshunde, einem kräftigen Thier von mittlerer Grösse, subcutan an verschiedenen Körperstellen beigebracht. Eine örtliche Reaction trat nicht ein, dagegen erschien das Allgemeinbefinden des Thiers in den nächsten Tagen etwas gestört zu sein; der sonst sehr lebhaftes Hund lag missmuthig im Käfig und reagierte nicht wie sonst durch lebhaftes Freudenbezeugungen beim Nahen seiner Wärter. Schon 2 Stunden nach der Einspritzung der Säure entleerte er einen Theil derselben mit dem Harn, der durchaus das Verhalten eines Alkaptonharns zeigte mit dem Unterschied, dass die Reduction der alkalischen Silberlösung erheblich langsamer erfolgte als im Harn der Alkaptonpatientin. — Der am folgenden Morgen vorgefundene Harn zeigte dieselben Eigenschaften wie der eben besprochene, nur dass die Reduction etwas rascher eintrat. Von da ab zeigte der Urin wieder sein gewöhnliches Verhalten. Der Hund hat sich also innerhalb 24 Stunden der Homogentisinsäure entledigt. Dass er dies nicht nur durch die Nieren gethan hat, zeigt einmal der Reductionswerth des Harns (entsprechend 1,82 gr. der Säure gegenüber 5,65 gr. eingeführter Substanz), sodann aber der Umstand, dass die auftretende Steigerung der Aetherschweifelsäureausscheidung zu gering ist, um einer den verschwundenen 3,83 gr. Säure entsprechenden Toluhydrochinonmenge äquivalent zu sein. Wir müssen vielmehr annehmen, dass ähnlich wie beim Menschen auch beim Hunde eine gewisse Menge der Homogentisinsäure in den Geweben zerstört worden ist. Die Steigerung der ge-

bundenen Schwefelsäure erreicht bei unserm Versuche nicht annähernd die excessiven Werthe, die Wolkow und Baumann bei ihrem Experimente fanden; die genannten Autoren dürften also mit Recht die Darmfäulniss für die von ihnen constatirte Spaltung im wesentlichen verantwortlich machen.

Wir weisen zum Schlusse unserer Arbeit nochmals darauf hin, dass die der Alkaptonurie zu Grunde liegenden anormalen Vorgänge weder ihrem Orte noch ihrer Aetiologie nach mit einiger Sicherheit ergründet sind. Wir haben zur Stütze der Hypothese von Wolkow und Baumann beweisende That-sachen nicht beibringen können. Ebensowenig ist es uns gelungen, diese Hypothese zu widerlegen. Wir haben bei den betreffenden Versuchen jedesmal erörtert, warum jedem einzelnen derselben eine zwingende Beweiskraft gegen die Ansicht von Wolkow und Baumann nicht zukommt. Indessen wird man gestehen müssen, dass durch die Gesamtheit der negativ verlaufenen, auf Grund der Hypothese erdachten Versuche die Wahrscheinlichkeit der Bildung der Homogentisinsäure im Darmkanal erheblich vermindert ist. Die Entscheidung wird nur von weiteren Versuchen und Beobachtungen zu erwarten sein. Die von Garnier und Voirin¹⁾ ohne jede experimentelle Grundlage aufgestellte Ansicht, es handle sich bei der Umwandlung des Tyrosins in Homogentisinsäure um einen normalen Vorgang, der für gewöhnlich durch die Zersetzung der gebildeten Homogentisinsäure im Darm verborgen bleibe, nur bei excessiver Tyrosinbildung (bei den Alkaptonpatienten) zur Alkaptonurie führe, fördert unser Verständniss des in Rede stehenden Processes — eben der Umwandlung des Tyrosins zu Homogentisinsäure — in keinem Punkte. Ausserdem würde, die Richtigkeit der Hypothese von Garnier und Voirin vor-

¹⁾ Dass die Aetherschweifelsäuren nicht im Darm durch Vereinigung der Phenole mit den Sulfaten entstehen, erwähnen wir deshalb, weil unser Schweigen über diesen Punkt von Garnier und Voirin als Zustimmung zu ihrer gegentheiligen Ansicht aufgefasst werden könnte.

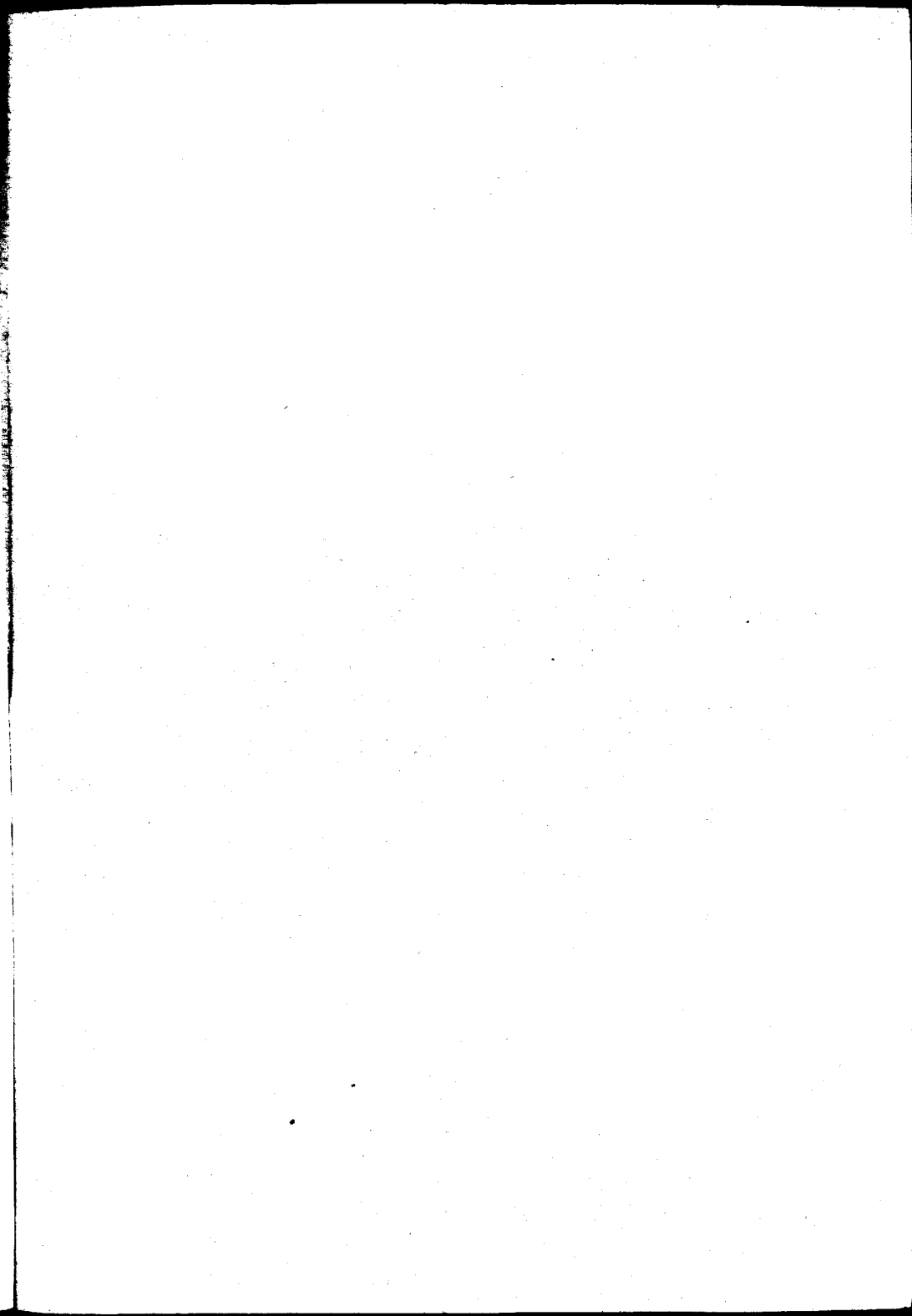
ausgesetzt, beim normalen Menschen nach Zufuhr grösserer Tyrosinmengen Alkaptonurie auftreten müssen, was nicht der Fall ist.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. Baumann, danke ich auch an dieser Stelle herzlich für die vielfache Belehrung, die er mir in seinem Laboratorium hat zu Theil werden lassen, sowie insbesondere für das fördernde Interesse, welches er der vorstehenden Arbeit stets entgegengebracht hat.



16080

Druckerei der «Str. N N.», vorm. H. L. Kayser.



2533/