

## VI.

## Zur Chemie des Eiweissharns.

Von Dr. J. C. Lehmann.

Wenn man die Verhältnisse beim Uebergange des Blutes oder des Blutserums in den Harn einer genaueren Erwägung unterwirft, dann bieten sich verschiedene Betrachtungen dar, die nicht ohne Interesse sind, und die ich bei den folgenden Untersuchungen näher zu verfolgen beabsichtigte.

Wenn man z. B. auf die entgegengesetzte Reaction der beiden Flüssigkeiten Rücksicht nimmt und mit der früher so allgemein verbreiteten Anschauung zusammenhält, dass nämlich ein Theil des Serumeiweisses als Natronalbuminat gelöst sei, und dass der Harn „freie Säure“ enthalte, die seine saure Reaction bedingte, dann konnte man erstens eine Ausfällung von Eiweiss erwarten beim Zusammenmischen der beiden Flüssigkeiten. Zu einem frischen, stark sauren Harne setzte ich tropfenweise Serum aus menschlichem Aderlassblute so lange, bis das Gemisch neutral reagirte; es trat aber auf keinem Stadium dieser Operation eine Trübung ein, während dagegen eine starke Trübung eintrat, wenn ich auf dieselbe Weise Serum zu destillirtem Wasser setzte. Wenn ich den Harn tropfenweise zum Serum fügte so lange, bis die Reaction sauer wurde, zeigte sich auch keine Trübung, und diess war ebensowenig der Fall, wenn ich die nämlichen Versuche mit einem schwach sauren Harne wiederholte. Wie ist nun dieses zu erklären?

Erstens ist es mehr als zweifelhaft, ob das Blut überhaupt Natronalbuminat enthält. Was man früher für Natronalbuminat oder Casein im Blute hielt, sind bekanntlich nichts Anderes als die fibrinbildenden Substanzen oder, wie ich sie der Kürze wegen nennen will, das Globulin. Ob ein Theil des Serumeiweisses daneben als Natronalbuminat im Blute gelöst ist, lässt sich nicht leicht entscheiden, weil das letztere sich fast in allen Beziehungen gegen Reagentien und Fällungsmittel ganz wie das Globulin verhält, und namentlich weil beide aus ihren alkalischen Lösungen

durch  $\text{CO}_2$  gefällt werden. Eine schwach alkalische Lösung von Natronalbuminat, nach Lieberkühn's Vorschrift aus globulinfreiem Hühnereiweiss bereitet, wurde ganz wie die alkalische Globulinlösung durch (salzsäurefreie)  $\text{CO}_2$  gefällt, und auf dieselbe Weise verhielt sich eine aus globulinfreiem Serum bereitete Natronalbuminatlösung. Alle drei Lösungen theilten ferner die Eigenschaft mit einander, dass die Fällung durch Zusatz von gewöhnlichem phosphorsauren Natron theilweise verhindert werden konnte, und sie verhielten sich in dieser Beziehung ebenfalls ganz ähnlich gegen  $\text{Ac}$ . Da nun indessen der durch  $\text{CO}_2$  im Blute hervorgebrachte Niederschlag seinem ganzen Verhalten zufolge nicht als aus zwei verschiedenen Substanzen bestehend angesehen werden kann, sondern in seiner Totalität die wenigen für das Globulin charakteristischen Eigenschaften besitzt, so dürfen wir auch nicht annehmen, dass das Blut mehr als einen Eiweisskörper in alkalischer Lösung enthält, nämlich das Globulin.

Da das Globulin sich indessen wie gesagt, so wie es im Blute gelöst ist, ganz wie Natronalbuminat verhält, und wohl auch zum Theil als solches angesehen werden kann, insofern es wahrscheinlich theilweise im Blute in Alkali gelöst ist, so wird die Frage also diejenige: warum wird das Globulin nicht ausgefällt, wenn man Blut oder Serum mit saurem Harne vermischt? Dieses ist zum Theil darin begründet, dass die saure Reaction des Harns in den allerhäufigsten Fällen gar nicht von einer „freien Säure“ abhängt, sondern nur von sauren Salzen und namentlich von saurem phosphorsauren Natron. Bis zu einem gewissen Grade kann dieses sich wohl als eine freie Säure alkalischen Globulinlösungen gegenüber verhalten, insofern das Alkali der letzteren sich mit einem Theile der im Salze nur an Wasser gebundenen  $\text{PO}_5$  verbinden kann, und da das Globulin wohl in Salzen, sauren wie neutralen, löslich ist, aber doch weniger wie in Alkali, so wird in Folge dessen derjenige Theil des Globulins ausgefällt werden können, welcher in der Salzmenge des Gemisches nicht gelöst werden kann. Setzte ich eine nur sehr wenig Alkali enthaltende Lösung von Globulin (aus Menschen- oder Rinderblut mittelst  $\text{CO}_2$  gefällt) tropfenweise zu einer Lösung von saurem phosphorsauren Natron, die eine der Phosphorsäuremenge des Harns entsprechende Quantität dieses Salzes enthielt ( $\frac{1}{3}$  pCt.), dann entstand um jeden Tropfen

herum eine starke Trübung, die Anfangs beim Schütteln verschwand; wenn ich aber eine gewisse Menge zugefügt hatte, dann löste der entstehende Niederschlag sich nicht wieder auf, so dass eine bleibende Trübung entstand, während die Reaction des Gemisches noch sauer war, und diese schwand nicht vollständig, wenn soviel Globulinlösung zugesetzt wurde, dass die Reaction alkalisch ward. Setzte ich umgekehrt die Salzlösung tropfenweise zu der Globulinlösung, dann entstand noch bei schwach alkalischer Reaction ein Niederschlag, der bei schwach saurer Reaction reichlicher wurde und sich im Ueberschuss der Salzlösung vollständig löste. Einer concentrirten Lösung von saurem phosphorsauren Natron konnte ich sehr viel Globulinlösung hinzufügen, bevor eine bleibende Trübung eintrat, und umgekehrt bewirkte eine sehr geringe Menge von der concentrirten Salzlösung einen Niederschlag in der Globulinlösung, der wiederum in einem sehr geringen Ueberschusse gelöst wurde. Ganz das nemliche Resultat erhielt ich, wenn ich statt der schwachen Salzlösung einen sauren Harn nahm. Controlversuche zeigten, dass die Trübung in diesen Fällen nicht von der Verdünnung der alkalischen Globulinlösung herrührte, die mit ihrem 8—10fachen Volumen Wasser gemischt werden konnte, ohne getrübt zu werden, während dagegen eine Lösung von Globulin in Salzen bei der Verdünnung mit Wasser bekanntlich getrübt wird. — Wenn ich Harn mit Serum versetzte, zeigte sich dagegen, wie oben angegeben, keine Spur von Trübung in dem Gemische, und dieses war ebensowenig der Fall, wenn ich Serum zu Lösungen von saurem phosphorsauren Natron verschiedener Concentration hinzufügte. Der Grund dafür muss darin liegen, dass das Globulin im Serum nicht allein mit Hülfe des freien Alkalis gelöst ist, sondern dass auch die Serumsalze und namentlich das gewöhnliche alkalisch reagirende phosphorsaure Natron und das Kochsalz dazu beitragen. Dieses wird dadurch bewiesen, dass die alkalische Globulinlösung, wenn sie vorher mit ein wenig von diesen Salzen versetzt war, fast gar keine Trübung hervorbrachte, wenn ich sie zu der Lösung von saurem phosphorsauren Natron oder zum Harn setzte. Derjenige Theil des Globulins, der nicht in den Harnsalzen gelöst werden kann, wird dann mit Hülfe der vom Blute aus mitgetheilten Salze gelöst gehalten.

Dass die saure Reaction des Harns nicht von einer freien

Säure, sondern von sauren Salzen herrührt, wird dadurch noch mehr wahrscheinlich, dass der eiweisshaltige Harn keine Spur von Säurealbuminat (eine Verbindung des Eiweisses mit Säure) enthält, welches ja, wie ich gefunden habe, gebildet wird, wenn man Eiweiss in Berührung mit einer sehr geringen Menge auch von den schwächsten Säuren wie Ac bringt, und sich dann dadurch zu erkennen gibt, dass die Neutralisation mit Alkali einen Niederschlag von Albumin hervorruft. Wenn man dagegen eine Eiweisslösung, z. B. eine neutrale Hühnereiweisslösung mit Lösungen von sauren Salzen, z. B. saurem phosphorsauren oder schwefelsaurem Natron versetzt, dann gibt das Gemisch bei Neutralisation gar keinen Niederschlag, selbst wenn es längere Zeit in der Wärme gestanden hat. Sauer reagirende Gemische von Serum und Harn oder saurem phosphorsauren Natron in verschiedenem Verhältnisse gaben bei Neutralisation auch nicht die geringste Spur von Trübung, selbst wenn sie ein paar Tage gestanden hatten. Lösungen von Globulin in Harn oder saurem phosphorsauren Natron gaben auch keine Spur von Niederschlag bei der Neutralisation, während dieses bekanntlich bei Lösungen von Globulin in freien Säuren der Fall ist. Ebenso wenig zeigte sich jemals eine Trübung bei der Neutralisation des sauren eiweisshaltigen Harns von Kranken, die an verschiedenen acuten und chronischen Nierenaffectionen litten, theils solchen Harns, der nur Eiweiss enthielt, theils solchen, der auch hämoglobinhaltig war; erst bei schwach alkalischer Reaction zeigte sich ein geringfügiger, aus Erdphosphaten bestehender Niederschlag.

Wenn Blut oder Blutserum in den Harn übergeht, dann wird in Folge des im vorhergehenden auseinandergesetzten das Verhältniss ganz einfach so, dass die saure Reaction des Harns die Alkalicität des Blutes aufhebt; das basische Wasser der sauren Harnsalze wird mit dem Alkali des Blutes gänzlich oder nur theilweise umgewechselt, je nach der Menge des ausgetretenen Blutes, und eine grössere oder geringere Menge der sauren Salze wird dabei durch solche mit einer grösseren Menge Basis vertreten. Die Blutsalze werden ferner mit den Harnsalzen gemengt, und da nun alle Salze mit alkalischer Basis, welche ihre Reaction auch sein mag, das Globulin ebenso wie das Serumeiweiss lösen, wenn sie nur in hinlänglicher Menge zugegen sind, so müssen diese 2 Substanzen sich also beide nebeneinander im Harne gelöst finden. Es ist mir

in der That gelungen, das Globulin in jedem eiweisshaltigen Harne nachzuweisen. Alle für die Salzlösungen des Globulins charakteristischen Reactionen habe ich in jedem eiweisshaltigen Harne wiedergefunden, am ausgeprägtesten in solchem Harne, der ausser einer grösseren Menge Eiweiss auch Hämoglobin enthält, deutlich aber auch in solchem, der nicht hämoglobinhaltig ist und beim Kochen nur einen geringen Niederschlag gibt. Es ist natürlicherweise immer nöthig, den Harn zu filtriren, um ihn ganz klar zu haben. Setzt man nun eine geringe Menge  $\text{Ac}$  zu dem unverdünnten Harne, so entsteht eine Trübung, die im Ueberschuss der Säure wieder löslich ist; dagegen bringt  $\text{CO}_2$  keine Veränderung hervor. Verdünnt man den Harn mit seinem 4—5fachen Volumen Wasser, so trübt sich die Flüssigkeit schwach, und leitet man jetzt  $\text{CO}_2$  hindurch, so entsteht nach  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  Stunde eine starke Trübung, die wiederum fast vollständig verschwindet, wenn man längere Zeit  $\text{O}$  durch die Flüssigkeit leitet; ebenso bringt  $\text{Ac}$  eine viel stärkere Trübung hervor, als in dem unverdünnten Harne. Neutralisirt man zuerst den Harn, dann wird die bei der Verdünnung ebenso wie durch  $\text{CO}_2$  und  $\text{Ac}$  hervorgebrachte Trübung viel weniger stark wie in dem sauren Harne, etwas das möglicherweise darin begründet ist, dass das saure phosphorsaure Natron des Harns bei der Neutralisation zum Theil in gewöhnliches phosphorsaures Natron umgewandelt wird, welches, wie früher angegeben, die Fällung des Globulins theilweise verhindert.

Nur in seltenen Fällen ist die durch  $\text{CO}_2$  ausgefällte Globulinmenge so bedeutend, dass sie einen eigentlichen Niederschlag bildet, der weiter untersucht werden kann; für gewöhnlich bildet sie nur eine mehr oder weniger dichte Wolke, die sich entweder gar nicht oder erst nach mehreren Tagen zu Boden senkt. Es ist mir namentlich nicht gelungen, so viel zu sammeln, dass ich durch Gerinnungsversuche die fibrinoplastische Wirksamkeit des Niederschlages habe constatiren können, aber auch ohne solche gibt es jedoch Beweise genug dafür, dass er wirklich Globulin ist. Dass es ein Eiweisskörper ist, welcher durch  $\text{CO}_2$  ausgefällt wird, geht daraus hervor, dass, wenn der eiweisshaltige Harn erst beim Kochen vollständig coagulirt wird, das Filtrat dann gar keine Trübung mit  $\text{CO}_2$  gibt. Dass dieser Eiweisskörper Globulin und nichts Anderes ist, wird genügend durch sein ganzes oben beschriebenes Verhal-

ten zu Ac,  $\text{CO}_2$  und U bewiesen, und ferner habe ich gefunden, dass diese Reagentien sich zu künstlichen Lösungen von Globulin in Harn und in saurem phosphorsauren Natron ganz ähnlich verhalten, wie zum natürlichen eiweisshaltigen Harne. Löste ich Globulin, welches durch  $\text{CO}_2$  aus dem Serum des Menschen- oder Rinderbluts ausgefällt war\*), in saurem Harne und filtrirte, so erhielt ich eine völlig helle Lösung, die, wenn sie nicht verdünnt wurde, keine Trübung mit  $\text{CO}_2$  und nur eine sehr schwache mit Ac gab, nach der Verdünnung dagegen durch beide Säuren sehr stark getrübt wurde, und nach vorausgegangener Neutralisation und Verdünnung eine weniger starke Trübung gab. Ganz auf dieselbe Weise verhielt sich eine Lösung von Globulin in saurem phosphorsauren Natron. Keine dieser Lösungen gab bei Neutralisation irgend eine Spur von Trübung. Beide lieferten sie mit  $\text{NO}_3$  einen Niederschlag, der im Ueberschuss löslich war, und beim Erhitzen einen Niederschlag, der in Natron nur unvollständig gelöst wurde. Der mit Globulin versetzte Harn fing beim Erwärmen bis  $62^\circ \text{C}$ . an getrübt zu werden, und bei  $79^\circ$  schieden sich grosse Flocken aus.

Obwohl es nach dem Angeführten eigentlich ganz überflüssig war, habe ich doch noch folgende Versuche mit Rücksicht auf die Harnsäure angestellt, die aus alkalischen Lösungen durch  $\text{CO}_2$  ausgefällt werden kann. Löste ich  $\bar{\text{U}}$  mit Hülfe von ein wenig Natron in Wasser in demselben Verhältnisse, in welchem sie im Harne enthalten ist (0,1 Gram. in 200 Ccm. Wasser) und leitete  $\text{CO}_2$  hindurch, so wurde sie nach längerer Zeit (1— $1\frac{1}{2}$  Stunde) in kleinen Krystallen ausgeschieden, die gleich zu Boden sanken; verdünnte ich diese Lösung, wie früher den Harn, mit 4—5 Theilen Wasser, so entstand durch  $\text{CO}_2$  nur eine sehr schwache Trübung. Schon hierin zeigt sich ein sehr wesentlicher Unterschied zwischen der Harnsäurelösung und dem Eiweissharne, welcher letztere ja eben um so mehr getrübt wurde, je mehr verdünnt er war. Im Harne kommt indess die  $\bar{\text{U}}$  nicht in alkalischer Lösung vor, sondern als neutrales oder saures Salz, und dieses Secret enthält ausserdem andere Stoffe, die zu ihrem Gelöstsein beitragen, z. B. das Kochsalz; versetzte ich die oben erwähnte, unverdünnte  $\bar{\text{U}}$ -Lösung

\*) Um anhängendes Serumweiß ganz zu entfernen, wurde es nochmals in sehr verdünnter Natronlauge gelöst, durch  $\text{CO}_2$  wieder ausgefällt und mehrmals ausgewaschen.

mit einer derjenigen des Harns entsprechenden Procentmenge Kochsalz, dann wurde sie durch  $\text{CO}_2$  nur sehr wenig getrübt. Ferner habe ich Controlversuche angestellt mit stark  $\bar{\text{U}}$ r-haltigem normalen Harne, der weder verdünnt noch unverdünnt während einer längeren Durchleitung von  $\text{CO}_2$  getrübt wurde. Endlich habe ich ein paar Mal soviel von dem durch  $\text{CO}_2$  in eiweisshaltigem Harne bewirkten Niederschlage auf sammeln können, dass ich die Murexidprobe damit anstellen konnte, und diese gab dann ein völlig negatives Resultat, wogegen die Masse eine sehr deutliche Xanthoproteinreaction gab.

Man kann es also als sicher festgestellt ansehen, dass der durch  $\text{CO}_2$  in jedem eiweisshaltigen Harne\*) bewirkte Niederschlag aus Globulin besteht. Ich will nur hinzufügen, dass wir sowohl dadurch, als auch durch den Umstand, dass das Globulin beim Erhitzen des Harnes ausgefällt wird, einen neuen Beweis dafür gewonnen haben, dass die saure Reaction des Harns nicht von freier Säure, sondern von sauren Salzen abhängt, denn keines von beiden tritt bekanntlich jemals in einer Lösung von Globulin in freier Säure ein. Von demselben Globulin, welches in saurem phosphorsauren Natron gelöst durch  $\text{CO}_2$  und Erhitzen ausgefällt wurde, löste ich etwas in einprocentiger  $\text{PO}_5$ , und diese Lösung blieb völlig klar, sowohl beim Erhitzen als auch mit  $\text{CO}_2$  und  $\bar{\text{A}}\text{c}$ , während sie mit Natron einen sehr reichlichen, im Ueberschuss löslichen Niederschlag gab.

Die Fibrinlösung findet bekanntlich nur bei schwach alkalischer Reaction statt, und es entsteht dadurch ganz natürlich die Frage: wie kann denn die Fibrinbildung im Harne stattfinden? Wenn die Reaction des Harns alkalisch ist, konnte man, welches die Ursache dieses Phänomens auch sein mag, erwarten, dass eine Gerinnung des Blutes darin möglich wäre, selbst wenn es intim mit dem Harne vermischt ist. Wenn ich ein fibrinogenhaltiges Transsudat mit einem schwach ammoniakalischen Harne mischte, und fibrinoplastische Substanz darin löste, so bildete sich doch gar kein Fibrin beim längeren Stehen darin, und dasselbe Resultat erhielt ich, wenn ich das Transsudat mit soviel saurem Harne ver-

\*) Wahrscheinlich muss hiervon der Eiweissharn nach den Einspritzungen von Hühnereiweiss ins Blut ausgenommen werden; es wäre jedoch eben von grossem Interesse zu prüfen, inwiefern dieses der Fall ist.

mischte, dass die Reaction des Gemisches sauer wurde und dann fibrinoplastische Substanz darin löste. Dass dieses nicht durch die beim Harnzusatz bewirkte Verdünnung des Transsudates veranlasst wurde, ging daraus hervor, dass eine dritte Portion von diesem mit einer entsprechenden Menge Wasser verdünnt, eine grosse Menge Fibrin ausschied, nachdem ebensoviel fibrinoplastische Substanz darin gelöst war. Bei der Erklärung dieser Thatsachen müssen wir dagegen erstens auf die beim Harnzusatz bewirkte Vermehrung der Salzmenge des Gemisches Rücksicht nehmen, ein Moment, welches, was den ammoniakalischen Harn anbetrifft, wohl auch das einzige ist, worin wir die Ursache des Ausbleibens der Fibrinbildung suchen können; eine grössere Menge von Salzen hat ja dieselbe hemmende Wirkung auf die Fibrinbildung wie zu viel Alkali. Was den sauren Harn anbelangt, ist es doch auch wahrscheinlich, dass die saure Reaction des Gemisches eine Bedeutung gehabt hat, denn, wenn ich das Transsudat nur mit ein paar Tropfen einer concentrirten Lösung von saurem phosphorsauren Natron, statt mit Harn angesäuert hatte, trat auch keine Fibrinbildung ein. Eine intime Mischung der fibrinbildenden Substanzen mit dem Harne scheint somit ihre Vereinigung zu Fibrin zu verhindern, und da wir nun dennoch oft Blutgerinnsel finden, sowohl in alkalischem, wie in saurem Harne, so müssen wir in solchen Fällen annehmen, dass eine intime Mischung des Blutes mit dem Harne nicht stattgefunden hat, wozu man sich wieder leicht verschiedene Ursachen denken kann, bei einer Blasenblutung z. B., dass das Blut wegen seines grossen specifischen Gewichtes im Harne zu Boden sinkt und dort coagulirt u. s. w.

Die letzte Frage, die ich zu beantworten versucht habe, ist diejenige, ob ein alkalischer eiweisshaltiger Harn Alkalialbuminat enthält. Scherer erwähnt in seinen „Chemischen und mikroskopischen Untersuchungen zur Pathologie“ p. 19 einen albuminösen Harn, der beim Stehen alkalisch geworden war. Ohne Zusatz von Ac gekocht, zog er eine stark gefurchte Haut wie Milch, und das Eiweiss verhielt sich ganz wie Käsestoff. „Offenbar, sagt er, ist der Harnstoff in kohlen-saures Ammoniak umgesetzt worden, und bewirkte als solches die Nichtgerinnung des Albumins und dessen Uebergang in eine dem Casein ähnliche Substanz“. Eine alkalische Caseinlösung, wie sie in der Milch enthalten ist, und Lösungen von



Alkalialbuminat verhalten sich bekanntlich zu den meisten Reagentien völlig eins, und insofern konnte man wohl durch die erwähnte Beobachtung zu der Annahme gebracht werden, dass alkalischer Harn wirklich Alkalialbuminat enthält, aber jetzt, nachdem wir wissen, dass jeder Eiweisssharn Globulin enthält, welches sich in alkalischer Lösung ganz wie Alkalialbuminat und Casein in alkalischen Lösungen verhält, fordert die Sache eine genauere Prüfung. Es ist wohl wahr, dass jeder eiweisshaltige Harn, den ich beim Stehen alkalisch werden liess, in der That beim Erwärmen statt zu coaguliren, die erwähnte Häutchenbildung an der Oberfläche zeigte, diess rührte aber nur von einer durch die Wärme bewirkten Ammoniakalbuminatbildung her. Vor der Erwärmung dagegen gab ein solcher Harn mit  $\overline{\text{Ac}}$  wohl eine schwache Trübung und nach der Verdünnung eine stärkere Trübung mit  $\overline{\text{Ac}}$  und ebenfalls mit  $\text{CO}_2$ , aber wohl bemerkt nicht stärker wie in dem ursprünglichen sauren Harne; diese Phänomene rühren somit nicht von einer Umbildung des Eiweisses in eine „caseinähnliche“ Substanz oder Ammoniakalbuminat, sondern nur von der ursprünglich darin enthaltenen Globulinmenge her. Es ist eigentlich auffallend genug, dass nicht ein Theil des Serumeiweisses während der alkalischen Gährung in Ammoniakalbuminat umgewandelt wird; es ist wohl wahr, dass die alkalische Reaction des Harns nicht auf freies Alkali zu beziehen ist, sondern auf kohlensaure Salze und namentlich kohlensaures Ammoniak, aber wenigstens dem Hühnereiweiss gegenüber verhält dieses sich ganz wie freies Alkali; eine mit kohlensaurem Ammoniak versetzte globulinfreie Hühnereiweisslösung gab, nachdem sie einige Zeit gestanden hatte, einen ebenso reichlichen Neutralisationsniederschlag, wie eine mit Ammoniak versetzte. — Ich brauche kaum hinzuzufügen, dass ein solcher ammoniakalischer Eiweisssharn auch mit saurem Harne oder saurem phosphorsauren Natron keine Trübung gibt.

---