

## Beitrag zur Kenntniss des Verhaltens des Harnes bei der Melanurie.

Von

Prof. Dr. R. v. Jaksch (Graz).

(Der Redaction zugegangen am 5. Februar 1889.)

Unsere Kenntnisse über die Eigenschaften des Harnes bei Anwesenheit von Melanogen oder Melanin sind noch immer recht dürftig. Die nachfolgenden Beobachtungen sollen versuchen, diese Lücken etwas auszufüllen.

Das zu diesen Untersuchungen verwendete Material erhielt ich aus der Klinik des Prof. Nothnagel. Es stammte von zwei Fällen, welche im Verlaufe des letzten Jahres daselbst beobachtet wurden. In beiden Fällen handelte es sich um melanotische Tumoren<sup>1)</sup>. Im ersten Falle wurden in dem etwas trüben und dunkelgefärbten Harn, welcher eine Dichte von 1,0184 aufwies, geringe Mengen von Eiweiss nachgewiesen. Beim Behandeln mit dem Nylander'schen Reagens wurde der Harn schwarz gefärbt; doch konnte ich mit anderen Proben keinen Zucker nachweisen. Beim Kochen des Harnes mit Natronlauge (Heller'sche Blutprobe) bildeten sich beim Erkalten braune Flocken. Er enthielt kein Aceton und keine Acetessigsäure. Mit Chromsäure (5% Lösung) lieferte der Harn einen schwarzen Niederschlag, Schwefelsäure gab eine intensive, schwarzbraune Färbung, Salzsäure eine allmählig eintretende Rothfärbung, Phosphorsäure und Essigsäure zeigten

---

<sup>1)</sup> Ich danke Herrn Prof. Nothnagel, als auch seinen Herren Aasistenten Dr. Bamberger und Dr. Lorenz bestens für die Ueberlassung des Untersuchungsmateriales.

keine deutliche Reaction. Das Verhalten gegen Salpetersäure ist leider in meinen Notizen nicht erwähnt, desgleichen auch nicht, ob der Harn reich war an indigoliefernder Substanz. Mit 3% Bromwasser gab er eine erst allmählig eintretende Dunkelfärbung, ähnlich verhielt er sich auch gegen Chlorwasser und unterchlorigsaures Natron. Bei Behandlung mit Eisenchloridlösungen von verschiedener Concentration trat auch bei Verwendung verdünnter Lösungen ein intensiver, schwarzer Niederschlag auf; wurde sehr verdünnte Eisenchloridlösung verwendet, so bildete sich zuerst ein grauer, aus Phosphaten bestehender Niederschlag, und nachdem man denselben durch Filtration entfernt hatte, trat im Filtrate auf Zusatz von concentrirteren Eisenchloridlösungen ein intensiver, schwarzer Niederschlag auf. Wurde der Harn mit Bariumchlorid ausgefällt, so zeigte der Niederschlag eine leicht graue Farbe, das Filtrat gab mit Eisenchlorid versetzt einen tief-schwarzen Niederschlag. Der Barytniederschlag selbst wurde durch Eisenchloridlösung allmählig schwarz gefärbt.

Sehr interessant war das Verhalten dieses Harnes zu Nitroprussidsalzen. Ich wurde auf dasselbe von Dr. Lorenz, Assistenten der I. med. Klinik in Wien, aufmerksam gemacht. Erst nachträglich habe ich mich in der vorliegenden Literatur orientirt und gefunden, dass einschlägige Beobachtungen bei dieser Affection von Thormählen<sup>1)</sup>, bei anderen Erkrankungen von Dreschfeld<sup>2)</sup>, weiter ähnliche von Krukenberg<sup>3)</sup> und Salkowski<sup>4)</sup> vorliegen. Der Harn verhielt sich in diesem Falle folgendermassen: Beim Versetzen mit einer verdünnten Natriumnitroprussidlösung und Kalilauge entstand eine rosaroth, bei Verwendung concentrirter Lösungen eine tiefrothe Färbung. Auf Zusatz von organischen Säuren (als Ameisensäure, Essigsäure) und anorganischen Säuren (als Salpeter-, Schwefel-, Salzsäure) trat eine tiefblaue Farbe auf. Bezüglich der Ameisensäure ist

<sup>1)</sup> Thormählen, Virchow's Archiv, Bd. 108, S. 317, 1887.

<sup>2)</sup> Dreschfeld. Brit. med. Journal [Schmidt's Jahrbücher, Bd. 213, S. 213 (Referat), 1887].

<sup>3)</sup> Krukenberg, Maly's Jahresbericht, Bd. 14, S. 60 (Referat), 1884.

<sup>4)</sup> Salkowski. Zeitschrift für physiol. Chemie. Bd. 9, S. 127, 1884.

zu bemerken, dass die blaue Farbe rasch in einen schmutzig gelben Farbenton übergang. Wurde statt Natron- oder Kalilauge Ammoniak zu der Probe verwendet, so trat die Reaction (Rothfärbung) erst allmählig ein. Wurde sehr verdünnter Harn verwendet, so zeigte sich auf Zusatz von Natriumnitroprussid und Kalilauge ein leichter, rasch schwindender, schwarzer Niederschlag, dann nahm die Probe einen Lilafarnton an und ging auf Zusatz von Essigsäure in Preussischblau über.

Dies sind die Beobachtungen, welche ich mir über die Untersuchung des ersten, derartigen Falles notirt habe. Wenn sie nicht so vollständig sind, wie es der Zweck meiner heutigen Mittheilung erfordert, so möge man die Entschuldigung darin finden, dass ich zur Zeit, als ich die Beobachtungen anstellte — wie es ja im Drange der klinischen Untersuchungen sich oft ereignet — nicht voraussah, dass dieselben für mich auch bald klinisches Interesse gewinnen würden.

Ueber die Untersuchung des zweiten Falles habe ich Folgendes zu berichten.

Der Harn war ziemlich dunkel gefärbt, etwas trüb und gab mit Eisenchloridlösung einen intensiv schwarzen Niederschlag. Mit Natriumnitroprussid, Kalilauge und anorganischen Säuren aller Art nahm er eine grün-blaue Färbung an, welche nach 24 Stunden bereits einem braun-grünen Farbentone des Flüssigkeitsgemenges Platz gemacht hatte, während am Boden des Gefässes sich ein blauer Niederschlag abgesetzt hatte. Bezüglich der Reaction mit Natriumnitroprussid, Kali- oder Natronlauge ist noch Folgendes zu bemerken: Dieselbe tritt mit allen weiter unten erwähnten, organischen und anorganischen Säuren ein. Mit Salpetersäure, Salzsäure (concentrirt) entstand — wie erwähnt — nach 24 Stunden ein blauer Niederschlag, desgleichen mit Essigsäure. Die Reaction mit Buttersäure zeigte eine grüne Farbe, die Probe mit Milchsäure war fleischfarben, mit verdünnter Schwefel- und Ameisensäure roth gefärbt. Führt man die Probe statt mit Natron- oder Kalilauge mit Ammoniak aus, so tritt erst allmählig eine leichte Rothfärbung ein, die auf Zusatz von Säuren in Grün übergeht. Diese Farbe schwindet

rasch; nach 24 Stunden findet man in der Ammoniakprobe einen leichten, weisslichen Niederschlag. Bei Verwendung von Bariumhydroxid — statt Natron- oder Kalilauge — tritt ein leicht roth gefärbter Niederschlag auf, der auf Säurezusatz in Grün übergeht, nach 24 Stunden hat sich ein leichter, violett gefärbter Niederschlag abgesetzt.

Es wurden dann nochmals 100 ccm. Harn mit Natriumnitroprussid und Kalilauge versetzt; auf Zusatz von Essigsäure trat eine prachtvolle blaue Farbe, allmählig ein Niederschlag auf. Derselbe wurde abfiltrirt und mit grossen Mengen Wassers ausgewaschen. Das grünlich gefärbte Filtrat nahm auf Zusatz von Natronlauge einen leicht gelben Farbenton an, wurde auf Zusatz von Salzsäure wieder grünlich gefärbt und auf Zusatz von überschüssiger Salzsäure entfärbt. Dieses klare, stark salzsäurehaltige Filtrat liefert mit Eisenchlorid eine grüne Farbe, welche später einem blauen Farbstoffniederschlage Platz macht. Es spricht also dieses Verhalten dafür, dass das Filtrat eine lösliche Modification von Berlinerblau enthalten hat. Der intensiv blaue, am Filter gebliebene, sorgfältig ausgewaschene Niederschlag wird in wenig warmer, verdünnter Natronlauge gelöst; es geht dann ein violetter Farbstoff in das alkalische Filtrat über. Diese Lösung zeigt ein ziemlich breites, aber wenig intensives Absorptionsband zwischen den Farben Gelb und Grün des Sonnenspectrums. Die alkalische, violette Lösung geht auf Zusatz von Salzsäure in Blau über, auf Zusatz von grösseren Mengen Salzsäure wird sie farblos und etwas getrübt, das klare Filtrat liefert mit Eisenchloridlösung einen allmählig eintretenden, blauen Niederschlag. Am Filter ist nunmehr ein nur geringer Niederschlag verblieben, der auf weiteren Zusatz von Kalilauge sich mit leicht röthlicher Farbe löst, auf Zusatz von Salzsäure sich so verhält, wie die violette Lösung. Beim Behandeln mit Salzsäure und Eisenchlorid gibt er einen allmählig eintretenden, blauen Niederschlag. Wird ein Theil des mit Wasser sorgfältigst ausgewaschenen — wie die mikroskopische Untersuchung zeigte — aus blauen Schollen bestehenden Niederschlages mit Natronkalk erhitzt, so liefert er ammoniakalische Dämpfe. Er

enthält also Stickstoff. Dieser Versuch wurde wiederholt ausgeführt und stets das gleiche, oben beschriebene Resultat erhalten. Es kann nach alledem wohl keinem Zweifel unterliegen, dass der aus Natriumnitroprussid, Kalilauge und Säuren in solchen Harnen sich bildende Farbstoff Berlinerblau ist, welches zum Theile in einer in Wasser löslichen, zum Theile unlöslichen Modification aufgetreten ist.

Eine weitere Portion, circa  $1\frac{1}{2}$  Liter, des mir übersandten, melaninhaltigen Harnes verhielt sich folgendermassen: Der Harn reagirte sauer, seine Dichte betrug 1,028, er enthielt kein Eiweiss [I., II., III. Probe negativ<sup>1)</sup>]. Bei Ausführung der Trommer'schen Probe entfärbte sich der Harn etwas, mit dem Nylander'schen Reagens gab er einen leichten, schwarzen Niederschlag, die Phenylhydrazinprobe ergab ein negatives Resultat. Beim Kochen mit Kalilauge trat ein leicht dunkel gefärbter Phosphatniederschlag auf; Indican war in mässigen Mengen vorhanden. Der Harn enthielt kein Aceton (Lieben'sche Jodoformprobe mit dem Destillate ergab ein negatives Resultat). Gegen Säuren verhielt sich der Harn wie folgt:

Concentrirte Salpetersäure: Rothscharze Färbung, nach 16 Stunden ist die Probe braunschwarz gefärbt, etwas trüb, eigenthümlich aromatisch riechend.

Concentrirte Schwefelsäure: Rothscharze Färbung, dann Trübung und etwas Niederschlag; nach 16 Stunden ist eine schwarze Färbung entstanden, am Boden des Reagensglases befand sich ein lichter Niederschlag.

Verdünnte Schwefelsäure: Leichte Rothfärbung.

Chromsäure: Schwarzbraune Färbung.

Phosphorsäure: Schwache rothbraune Färbung.

Essigsäure: Schöne, rothe Farbe.

Buttersäure: Leichte Rothfärbung.

Phosphormolybdänsäure und Verdünnte Schwefelsäure: } Schwarzgrüner Niederschlag, der nach 16 Stunden intensiv grün gefärbt ist.

Phosphorwolframsäure: Violettrother Niederschlag.

Phosphorwolframsäure und Verdünnte Schwefelsäure: } Etwas schwarzvioletter Niederschlag.

<sup>1)</sup> Siehe: v. Jaksch, Klinische Diagnostik, 2. Aufl., S. 265 u. 266. Urban und Schwarzenberg, 1889.

Die durch Einwirkung der oben erwähnten Säuren, desgleichen auch mit Eisenchlorid entstandene Färbung eines solchen Harns schwindet nicht bei Anwendung reducirender Mittel. (Siehe unten.)

Gegen Salzlösungen und alkalische Erden verhielt sich der Harn folgendermassen:

10% Bleizuckerlösung: Intensiver, leicht grauer Niederschlag, der auf Zusatz von Eisenchlorid sich schwarz färbte. Wurde der mit dieser Lösung erhaltene Niederschlag mit Alkohol behandelt, so resultirte ein beinahe farbloses Filtrat. Bei Behandeln mit saurem (mit etwas verdünnter Schwefelsäure versetztem) Alkohol ging ein rother Farbstoff in das Filtrat, der im Spectralapparate ein breites, im rothen Theile des Spectrums beginnendes Absorptionsband zeigte. Eine Probe desselben lieferte im Wasserbade eingedampft einen eigenthümlich riechenden, schwarzen, schmierigen Rückstand.

Chlorbarium: Grauer Niederschlag, der sich auf Zusatz von Eisenchloridlösung dunkler färbt. Das Filtrat mit Eisenchloridlösung versetzt nimmt eine schwarze Farbe an.

Kalkmilch: Gelblicher Niederschlag, der auf Zusatz von Eisenchloridlösung mehr braungelb gefärbt wurde.

Mit Eisenchloridlösung versetzt zeigte der Harn folgendes Verhalten: Durch eine 10% Eisenchloridlösung wurde nur ein Theil des Farbstoffes gefällt; das klare, schwarzbraune Filtrat zeigte im Spectralapparate ein breites Absorptionsband, welches bei Roth beginnend gegen das violette Ende des Spectrums an Intensität zunahm. Auch ganz verdünnte, kaum gelb gefärbte Eisenchloridlösungen gaben mit solchen Harnen eine leichte, schwarzbraune Trübung, mittelstarke gaben einen weissgrauen Niederschlag; das Filtrat wiederum mit Eisenchloridlösung versetzt, zeigte dann neuerdings eine dunkle Färbung und einen leichten Niederschlag. Setzt man Eisenchloridlösung im Ueberschusse zu, so schwindet der graue Niederschlag, der schwarze jedoch bleibt bestehen und kann abfiltrirt und gereinigt werden. Wird Eisenchloridlösung in sehr grosser Menge zugesetzt, so löst sich der entstandene, schwarze Niederschlag wieder auf. Aus alldem ergibt sich, dass wir in der Eisenchloridlösung ein sehr bequemes und empfindliches Reagens auf Melanogen oder Melanin besitzen.

Bezüglich des mittels Fällung durch Eisenchloridlösung erhaltenen Farbstoffes bin ich in folgender Weise vorgegangen: Der Niederschlag wurde mit viel kaltem, destillirtem Wasser gewaschen und dann wiederholt mit heissem Wasser ausgekocht. Er ist unlöslich in Alkohol, löst sich in Kalilauge und Salzsäure mit röthlicher Farbe. Die alkalische Lösung des Farbstoffes gibt keine Reaction mit Kalilauge, Natriumnitroprussid und Essigsäure. Der schwarze Farbstoff löst sich weiter noch in folgenden Substanzen: In Salpetersäure in der Kälte mit rothbrauner Farbe, beim Kochen tritt dann nach und nach eine gelbe Färbung ein; fast ebenso verhält er sich gegen concentrirte Salzsäure. In concentrirter Schwefelsäure löst er sich in der Kälte mit etwas grünbrauner Farbe, beim Kochen mit Schwefelsäure tritt ein schwarzer Niederschlag auf; auch in verdünnter Schwefelsäure ist er löslich. Der Farbstoff löst sich ferner in mässig concentrirter Fluorwasserstoffsäure, wird dabei jedoch etwas entfärbt. Er ist löslich in heisser Ameisen- und Milchsäure, und zwar liefert er eine schwarzbraune Lösung; wenig löslich ist er in kalter Ameisen- und Milchsäure. Fast unlöslich ist er in heisser Butter- und Essigsäure, ferner unlöslich in Chloroform, Glycerin, Terebinthenöl, Benzol, Petroleumäther, Methylalkohol. Der Farbstoff wird durch reducirende Mittel (Natriumamalgam) nicht zerstört. Der schwarze Niederschlag verbrennt beim Glühen am Platinbleche unter Hinterlassung einer röthlichen Asche, welche aus Eisenoxyd besteht, wie durch die Rhodankaliumreaction nachgewiesen wurde. Dieselbe Reaction beobachtet man, wenn man den mit 10% Bleizuckerlösung erhaltenen, grauen Niederschlag glüht. Es rührt also sein Eisengehalt nicht von den ihm etwa noch anhaftenden Mengen von Eisenchlorid her, durch welches er aus dem Harn isolirt wurde. Mit etwas Natronkalk erhitzt stösst der schwarze Farbstoff Ammoniakdämpfe aus, er enthält also Stickstoff. Ferner enthält er Schwefel, was sich aus folgendem Verhalten ergibt: Der schwarze Körper wird mit reinem, kohlen-saurem Natron eingedampft, dann etwas Salpeter zugesetzt, geschmolzen, wiederholt mit Salzsäure eingedampft, endlich in Wasser gelöst, mit Salzsäure versetzt und filtrirt.

Das klare Filtrat liefert auf Zusatz von Chlorbarium schwefelsauren Baryt. Nach den hier aufgeführten Eigenschaften des Farbstoffes dürfte es wohl keinem Zweifel unterliegen, dass er identisch ist oder sich sehr ähnlich verhält, wie jenes schwarze Pigment, das Mörner<sup>1)</sup> aus dem Harn eines an melanotischen Tumoren leidenden Individuums gewann, und zwar mit jenen Portionen des Farbstoffes, welche in Essigsäure<sup>2)</sup> unlöslich waren. Mit Rücksicht auf die ausführlichen und erschöpfenden Angaben von Mörner habe ich Abstand genommen, weitere Untersuchungen über das chemische Verhalten des Farbstoffes auszuführen. Auch schien es mir deshalb unnöthig, quantitative Bestimmungen des Eisen-, Schwefel- oder Stickstoff-Gehaltes zu machen, um so mehr, als es mir trotz mancher Versuche nicht gelang, diesen Farbstoff in krystallinischer Form zu erhalten, und als ich weiter die Ueberzeugung gewann, dass es sich nicht um einen Farbstoff, sondern um ein Gemenge verschiedener Farbstoffe handelt. Die erschöpfenden Literaturangaben, welche Mörner<sup>3)</sup> in seiner Arbeit aufgeführt hat, und denen ich nichts hinzuzufügen habe, entheben mich der Mühe, dieselben hier aufzuführen. Ich habe aber das Verhalten des Harnes in solchen Fällen deshalb so detaillirt geschildert, weil es allenfalls für spätere Bearbeiter dieser Frage von Interesse sein kann, über diese Dinge orientirt zu sein.

Ich will weiter an der Hand der hier niedergelegten Thatsachen die Frage erörtern, in wieweit die Berlinerblau-reaction — so dürften wir wohl jetzt die von Thormählen und H. Lorenz in solchen Harnen aufgefundene Reaction mit Natriumnitroprussid, Kalilauge und Säure nennen — klinische Bedeutung hat. Kann man sie für die Diagnose der Melanurie verwerthen?

Dass sie dem pathologischen Farbstoffe, dem Melanin, als solchem nicht zukommt, ist aus den hier mitgetheilten

<sup>1)</sup> Mörner, Zeitschrift f. physiologische Chemie. Bd. 11, S. 66, 1887.

<sup>2)</sup> Mörner, l. c., S. 95 u. 109.

<sup>3)</sup> Mörner, l. c., S. 141; siehe auch v. Jaksch, Klinische Diagnostik. 2. Auflage, l. c., S. 316.

Beobachtungen ersichtlich, denn der Farbstoff als solcher in Kalilauge gelöst gibt mit Natriumnitroprussid, Kalilauge und Säure keine derartige Reaction.

Es wäre nun naheliegend anzunehmen, dass ausser dem aus solchen Harnen isolirten Farbstoffe, dem Melanin oder den Melaninen, vielleicht noch ein anderer für die Melanurie charakteristischer Farbstoff ausgeschieden wird, dessen Anwesenheit durch dieses oben geschilderte Verhalten des Harnes angezeigt wird — aber auch diese Ansicht hält einer kritischen Beleuchtung nicht Stand. Dreschfeld (l. c.) hat das gleiche Verhalten des Harnes gefunden in einem diabetischen Harne. Ich fand jüngst die gleiche Reaction bei einem dreijährigen Kinde, welches an Coprostase und leichten Verdauungsstörungen litt und bei dem jeder Verdacht auf das Vorhandensein einer Melanurie ausgeschlossen war. Der mit Natriumnitroprussid, Kalilauge und Essigsäure in der oben wiederholt beschriebenen Weise behandelte Harn lieferte Berlinerblau. Bei Untersuchung des Niederschlages bin ich so vorgegangen, wie ich es oben beschrieben habe. In diesem Falle zeigte die Reaction mit Eisenchlorid kein Vorhandensein von Melanin, wohl aber von Acetessigsäure an, und die weitere Untersuchung ergab, dass der Harn enorm reich an indigoliefernden Substanzen war. Die Diaceturie, Indicanurie, sowie die wiederholt erwähnte Berlinerblau-*Reaction* verschwand sofort, als die bei dem Kinde bestehende Coprostase behoben wurde. Es kann deshalb diese Reaction für die Diagnose einer bestehenden Melanurie nur mit Reserve verwerthet werden, und zwar nur dann, wenn durch andere Reactionen (Eisenchloridlösung) Melanin mit Sicherheit nachgewiesen wurde.

Ich möchte hier nochmals darauf aufmerksam machen, dass die durch meine Untersuchungen in allen Punkten bestätigten Beobachtungen von Krukenberg (l. c.) und Salkowski (l. c.) bereits gezeigt haben, dass man bei Einwirkung von Essigsäure in der Wärme auf die mit Harn erhaltene Reaction mit Natriumnitroprussid und Kalilauge blaue Färbungen erhält, welche — wie bereits erwähnt — die genannten

Autoren als Berlinerblau ansprachen. Es scheint also, dass bei der Melanurie sowohl, als in allen anderen Fällen, wo man diese Reaction findet, es sich um eine vermehrte Ausscheidung eines auch im normalen Harne vorkommenden, unter diesen Umständen Berlinerblau liefernden Körpers handelt. Allerdings verhält sich im normalen Harne dieser Körper etwas anders, es tritt erst nach dem Kochen der Probe die Bildung von Berlinerblau ein, während in den oben erwähnten pathologischen Fällen die Probe bereits in der Kälte eintritt<sup>1) 2)</sup>.

Zum Schlusse möchte ich noch die in diesen Beobachtungen enthaltenen Thatsachen in wenigen Worten kurz zusammenfassen.

1. Das empfindlichste Reagens zum Nachweise einer bestehenden Melanurie haben wir in einer Eisenchloridlösung, welche auch in grosser Verdünnung melanogen- oder melaninhaltige Harne schwarz färbt.

2. Der in solchen und ähnlichen Harnen mit Nitroprussidsalzen, Laugen und Säuren entstehende Farbstoff ist Berlinerblau.

3. Diese Berlinerblau-Reaction hängt jedoch mit der Ausscheidung von Melanogen und Melanin nicht zusammen. Sie findet sich auch in anderen — wie es scheint — vor allem an indigoliefernder Substanz reichen Harnen.

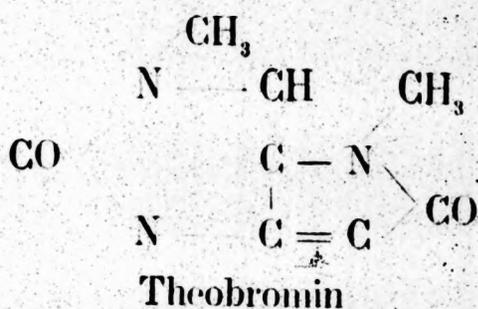
<sup>1)</sup> Fäces geben in der Wärme mit Natriumnitroprussid die gleiche Reaction.

<sup>2)</sup> Vielleicht beruhen solche Reactionen auf dem Auftreten von Indol (?) im Harne, und würde dadurch das Auftreten einer solchen Reaction in an indigoliefernden Substanzen reichem Harne erklärt werden, indem ein Theil dieses Körpers der Oxydation im Organismus entgeht. Eine Bemerkung von Salkowski, l. c., S. 128, zeigt, dass nämlich Indol unter solchen Verhältnissen Berlinerblau liefern kann. Damit wäre aber noch immer nicht das Auftreten einer solchen Reaction in dem nur mässig indicanreichen Harne (Fall 2 meiner Beobachtungen) erklärt.

## Druckfehler.

Im vorigen Heft, Band XIII, Seite 308, ist folgende Correctur anzubringen.

Statt:



muss es heissen:

