

# Ueber das Auftreten und den Nachweis von Histonen im Harn.

Von  
Dr. Adolf Jolles in Wien.

Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium von Dr. Max und Dr. Adolf Jolles in Wien.  
(Der Redaction zugegangen am 25. April 1898.)

Durch die Untersuchungen Stadelmann's<sup>1)</sup> und seiner Schüler ist bekanntlich der Beweis erbracht worden, dass echtes Pepton — das eigentliche Endprodukt der Pepsinverdauung der Albumine — im Harn nicht vorkommt, wodurch auch der Name Peptonurie seine Berechtigung verloren hat. Die daher schon vielfach gestellte Forderung, die Peptonurie als klinisches Symptom fallen zu lassen und statt derselben Albumosurie zu setzen, ist nach den einschlägigen Untersuchungen nur zu gerechtfertigt. Leider lässt aber auch der unzweideutige Nachweis der Albumosen im Harn noch Vieles zu wünschen übrig, seitdem wir wissen, dass sowohl die Hofmeister-Salkowski'sche, als die Devoto'sche Methode ganz unzuverlässig sind, wenn der zu untersuchende Harn Urobilin enthält. — Sowohl die Phosphorwolframsäure als das Ammonsulfat etc. fällen das Urobilin aus dem Harn ziemlich vollständig und unzersetzt aus, so dass der positive Ausfall der Biuretreaction sowohl vom Urobilin als von etwaigen Albumosen herrühren kann.

Nach den von mir gemachten Erfahrungen ist es zweifellos, dass auch absolut-physiologisch eiweissfreie, jedoch urobilin-haltige Harn nach den genannten Methoden ein positives

<sup>1)</sup> Stadelmann, Untersuchungen über die Peptonurie. Wiesbaden 1894.

Ergebniss der Biuretreaction zur Folge haben, so dass tatsächlich keine der bisher bekannten Methoden den einwandfreien Nachweis von Albumosen im Harne gestattet.

Ich habe es mir nun zur Aufgabe gestellt, festzustellen, ob der am häufigsten vorkommende Fall von Albumosurie im Harne, die sogenannte pyogene Albumosurie, von Albumosen oder, was naheliegender ist, von Histonen herrührt und wie der Nachweis dieser Histone im Harne am besten einwandfrei erfolgen könne. Bekanntlich findet man Albumosen im Harne häufig bei solchen Zuständen, bei denen es sich um Resorption eitriger Exsudate handelt, oder kurz bei Processen, welche zur Ansammlung und dann zum Zerfalle von weissen Blutzellen führen, die in den Kreislauf gelangen und mit dem Urin eliminirt werden. In neuerer Zeit sind Albumosen im Harne von Krehl und Matthes<sup>1)</sup> auch bei einer Reihe von Zuständen gefunden worden, die mit erhöhtem Zerfall leucocytenhaltigen Materials einhergehen, z. B. bei septischem Fieber, bei Pyämie, bei Lungentuberkulose etc. Nun wissen wir, dass die Leucocyten der Lymphdrüsen und der Thymusdrüse zum grössten Theil aus Nucleohiston bestehen, welches bei der Behandlung mit verdünnter Salzsäure in ein Nuclein, das Leuconuclein (4,7% Phosphor), und in einen P-freien Eiweisskörper, das Histon, zerfällt, der mit dem zuerst von Kossel<sup>2)</sup> in den Kernen der rothen Blutkörperchen der Gans entdeckten und als peptonartigen Bestandtheil des Zellkernes beschriebenen Histon identisch ist. Wie Fr. N. Schulz in seiner kürzlich erschienenen Abhandlung «Der Eiweisskörper des Hämoglobins»<sup>3)</sup> mit Recht hervorhebt, wird Kossel zu dem Ausdrucke «peptonartig» durch die Salpetersäurereaction veranlasst gewesen sein, welche das Histon mit den Albumosen gemeinsam hat. Wenn man jedoch von dieser Reaction absieht, sind die Histone durch eine Reihe charakteristischer Reactionen ausgezeichnet, welche den Albumosen nicht zukommen, und daher ist der Schulz'sche

1) Deutsches Archiv für klin. Med., Bd. 54. S. 501.

2) Zeitschr. für physiol. Chemie, 1884. VIII. S. 511, 515.

3) Zeitschr. für physiol. Chemie. Bd. XXIV. S. 449.

Vorschlag, die Histone in eine besondere Gruppe von Eiweisskörpern abzugliedern, sehr berechtigt. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, dass die weissen Blutkörperchen nicht nur morphologisch, sondern auch hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung mit den Leucoeyten der Lymphdrüsen übereinstimmen, so dass die Resultate der über diese vorliegenden Untersuchungen direkt auf die weissen Blutkörperchen übertragen werden können. Andererseits stellen die Eiterkörperchen ja auch nur ausgewanderte weisse Blutzellen dar, welche mehr oder weniger in einer dem Blutserum entsprechenden Flüssigkeit suspendirt sind, so dass die bei Eiterungsprocessen im Harn häufig auftretenden Albumosen mit den Leucoeyten in gewissem Zusammenhange stehen dürften.

Thatsächlich habe ich in dem letzten Jahre bei mehreren eitrigen oder von Eiterungsprocessen herrührenden Harnen (Cystitis, Pyelitis, Pyelo-Nephritis, eitriger Meningitis, eitriger Phthise) stets einen Eiweisskörper nach nachstehendem Verfahren isoliren können, der seinem chemischen Verhalten nach in die Gruppe der Nucleohistone einzureihen wäre.

Je circa 1 bis 2 Liter Harn wurden etwa  $\frac{1}{4}$  Stunde auf dem Wasserbade bei circa 60 bis 70° C. erwärmt und der Harn hierauf filtrirt. Das Filtrat wurde in einem entsprechenden Schütteleylinder mit Essigsäure vorsichtig versetzt und, um den entstandenen, sehr fein vertheilten Niederschlag schneller und vollständiger zum Absetzen zu bringen, mit etwas Kieselgubr kräftig geschüttelt. Nachdem sich der Niederschlag zu Boden gesetzt hatte, wurde er auf einem Filter gesammelt, das Filter sammt Niederschlag wurden hierauf in einem Erlenmayer'schen Kölbchen mit verdünnter Natronlauge (circa 4%) digerirt und dann filtrirt. — Das Filtrat, in welchem sich der gelöste Eiweisskörper befand, wurde neuerdings mit Essigsäure gefällt und die Reinigung des Eiweisskörpers noch zweimal wiederholt. Um den zum dritten Male mit Essigsäure gefällten Eiweisskörper, welcher in so fein vertheiltem Zustande in der Flüssigkeit suspendirt war, dass er sich nicht vollkommen zu Boden setzte, vollständiger und schneller zum Absetzen zu bringen, wurde das Gemisch mit dem gleichen Gewichte absoluten

Alkohols versetzt und kräftig geschüttelt. Schon nach relativ kurzer Zeit setzte sich der Niederschlag zu Boden; derselbe wurde auf dem Filter gesammelt, mit warmem Alkohol und kaltem Aether behandelt und bei circa 100° getrocknet. Ein Theil der erhaltenen Substanz wurde der qualitativen Phosphorprüfung unterworfen, welche in allen Fällen positiv ausgefallen ist. Zu einer exacten quantitativen P-Bestimmung reichten die gewonnenen Mengen nicht aus. Ein Theil des gewonnenen Eiweisskörpers wurde in jedem Falle mit circa 1%iger Salzsäure mehrere Stunden behandelt, dann filtrirt und hierauf zu einem Theile des salzsäurehaltigen Filtrates Ammoniak zugesetzt. Es konnte sofort das Auftreten einer Trübung beobachtet werden, welche sich nach kräftigem Schütteln in Form eines flockigen Niederschlages zu Boden setzte. Diese Reaction ist für das Histon charakteristisch. Ein anderer Theil des salzsäurehaltigen Filtrates gab mit Natronlauge und Kupfersulfat in der Kälte Biuretreaction. Die Prüfung der Coagulirbarkeit des Eiweisskörpers in der Hitze fiel jedoch negativ aus, so dass derselbe in diesem Verhalten von dem Lilienfeld'schen Histon, welches bekanntlich in der Hitze coagulirbar ist, wobei das Coagulum sich in verdünnten Mineralsäuren leicht auflöst, differirt. Auch das von Kolisch und Burian<sup>1)</sup> in einem Falle von Leukämie dargestellte Histon zeigte, ebenso wie das von mir bei einem Falle von Pseudoleukämie<sup>2)</sup> nach erfolgtem Zerlegen des aus dem Harn isolirten Nucleohistons mit verdünnter Salzsäure gewonnene Histon Coagulation in der Hitze. Hingegen erwies sich das aus den eitrigen Harnen isolirte Histon als identisch mit dem Kossel'schen Histon, welches ebenfalls in der Hitze coagulirt. Die Differenzen hinsichtlich der Coagulation in der Hitze lassen vielleicht eine geringe constitutionelle Verschiedenheit der Leucoeyten und Eiterkörperchen vermuthen, die genaue Feststellung der Ursache

1) Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. XIX, S. 374.

2) Adolf Jolles, Ueber das Auftreten und den Nachweis von Nucleohiston bei einem Falle von Pseudoleukämie. Zeitschrift für klinische Medicin, 34. Bd., Heft 1 u. 2.

dieser Verschiedenheit bleibt jedoch noch einer späteren Arbeit vorbehalten. Die bisherigen Untersuchungen berechtigen jedenfalls zu der Annahme, dass bei Eiterungsprocessen im Harn ein dem Nucleohiston verwandter Eiweisskörper im Harn auftritt, und dieses Ergebniss veranlasste mich, die bisher festgestellten Eigenschaften, welche das Nucleohiston von den durch die Verdauung dargestellten Albumosen unterscheiden, an reinen Präparaten zu prüfen und eventuell zu ergänzen. Zu diesem Zwecke habe ich einerseits aus Witte's Pepton nach den Angaben von E. Pick<sup>1)</sup> die primären und secundären Albumosen isolirt, andererseits habe ich nach dem Vorschlage von Lilienfeld<sup>2)</sup> Nucleohiston aus fein zerhackten Thymusdrüsen rein dargestellt.

Als schliessliches Ergebniss der Vergleichung der Reactionen dieser Körper resultirté, dass das Nucleohiston mit den Albumosen nur die Salpetersäurereaction gemeinsam hat, im Uebrigen aber ein ganz verschiedenes Verhalten zeigt. Im Gegensatze zu den Albumosen wird das Nucleohiston von Salzsäure, Schwefelsäure, verdünnter Essigsäure, Chlorbaryum gefällt, hingegen bedingt Essigsäure und Ferrocyankalium, welches die primären Albumosen ausfällt, keine grössere Trübung als die Essigsäure allein. Auch das zweite Spaltungsprodukt des Nucleohistons, das Histon, zeigt wesentliche Unterschiede gegenüber den Albumosen und steht in seinen specifischen Eigenschaften viel näher den echten Eiweisskörpern als den Albumosen.

Bei der Bedeutung, welche dem Nachweise des Nucleohistons im Harn bei Eiterungsprocessen — also bei der sogenannten pyogenen Histonurie — zukommen dürfte, erlaube ich mir auf Grund zahlreicher Versuche nachstehendes Verfahren zum sicheren Nachweise dieses Eiweisskörpers im Harn vorzuschlagen: 50 bis 100 ccm. des eiweissfreien Harnes

1) Untersuchungen über die Proteinstoffe. I. Ein neues Verfahren zur Trennung von Albumosen und Pepton. Zeitschr. für physiol. Chemie. Bd. XXIV. S. 246.

2) Zur Chemie der Leucocyten. Zeitschr. für physiol. Chemie. 1894. XVIII. 475—486.

werden mit 4%iger Essigsäure unter Umrühren schwach angesäuert. Hierauf setzt man Chlorbaryum (10%) unter Umrühren so lange zu, bis keine Trübung mehr entsteht, und rührt das Gemisch wiederholt um.

Nach etwa halbstündigem Stehen hat sich der Niederschlag zu Boden gesetzt: man giesst die über dem Niederschlage stehende klare Flüssigkeit ab und bringt den Niederschlag auf ein Filter. Ohne auszuwaschen, werden Niederschlag sammt Filter in ein Becherglas gebracht, mit 10 ccm. einer 1%igen Salzsäure übergossen und mehrere Stunden (3—4) stehen gelassen. Hierauf setzt man, um eventuell vorhandenes Chlorbaryum, welches die später folgenden Reactionen störend beeinflusst, auszufällen, so lange festes Natriumcarbonat hinzu, bis Lackmuspapier Blaufärbung zeigt.

Nunmehr wird filtrirt und das Filtrat in 2 Theile getheilt. Zu einem Theile setzt man etwas concentrirte Lauge, überschichtet mit verdünnter Kupfersulfatlösung und beobachtet die Biuretreaction. Den anderen Theil säuert man vorsichtig mit verdünnter Salzsäure an und setzt Ammoniak hinzu. Bei Gegenwart von Histon tritt eine deutliche Trübung ein.

Bei eiweisshaltigen Harnen ist die Enteiweissung mittelst essigsauren Natrons und Eisenchlorid in der Wärme nicht geeignet, weil das Nucleohiston hierbei zum grössten Theile niedergeschlagen wird. Hingegen empfiehlt es sich, in eiweisshaltigen Harnen statt mit Chlorbaryum den Harn mit Kieselguhr zu versetzen, um den durch verdünnte Essigsäure hervorgerufenen Niederschlag nach dem Schütteln mit Kieselguhr besser zum Absetzen zu bringen. Niederschlag sammt Filter behandelt man hierauf mehrere Stunden mit verdünnter Salzsäure (1%) und filtrirt. Das Filtrat wird mit Ammoniak versetzt, wobei neben mineralischen Substanzen auch das eventuell vorhandene Histon ausfällt. Der Niederschlag wird auf einem kleinen Filter gesammelt, dann in Essigsäure gelöst und in dieser Lösung das Histon durch die Biuretreaction und eventuell die Coagulation in der Hitze nachgewiesen.