

Zur Bestimmung der Xanthinkörper und der Harnsäure im Harne.

Von
G. Gittelmacher-Wilenko.

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der Universität Lemberg.
Der Redaction zugegangen am 2. Juli 1902.)

Die meisten und genauesten der bisherigen Methoden zur Bestimmung der Xanthinkörper im Harne haben den gemeinsamen Nachtheil, dass sie verhältnissmässig umständlich und zeitraubend sind. Die unlängst aus dem hiesigen Laboratorium in dieser Zeitschrift¹⁾ veröffentlichte sogenannte Oxydation-Filtratmethode von L. Niemiłowicz schien bei gleicher Genauigkeit vom obenerwähnten Nachtheile frei zu sein. Deshalb habe ich mir zur Aufgabe gestellt, zu prüfen, ob diese Methode bei pathologischen Harnen auf keine grösseren Schwierigkeiten stösst. Zweitens versuchte ich die naheliegende und schon von Niemiłowicz²⁾ ausgesprochene Vermuthung, dass durch die Combination dieser Methode mit der von Denigés die Harnsäure im Harne quantitativ bestimmt werden kann, experimentell zu begründen.

Zur Lösung der ersten Frage wurde folgendes Verfahren eingeschlagen: in einer Reihe von pathologischen Harnen wurden die Xanthinkörper in parallelen Doppelanalysen nach E. Salkowski und Niemiłowicz bestimmt; in einer anderen Reihe wurden die Xanthinkörper nur nach Niemiłowicz bestimmt, dann den Harnen abgewogene Mengen von Xanthin

1) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XXXV, S. 264.

2) l. c. S. 297.

oder Guanin (Präparat von Merk) in schwach saurer Lösung zugesetzt und die Bestimmung wiederholt. Die Differenz zeigte den zurückgewonnenen Theil des Zusatzes an. Was die Ausführung selbst betrifft, habe ich im Allgemeinen das in der Vorschrift angegebene Verfahren beibehalten und bin nur in minder wichtigen Einzelheiten abgewichen, selbstverständlich nach vorheriger Prüfung, ob dadurch die Resultate unbeeinflusst bleiben. Diese Abweichungen sind folgende: 1. Nach Zusatz von Natriumsulfit wurde einigemal umgeschwenkt und bald darauf Ammoniak zugesetzt; 2. das mit Silberlösung versetzte und auf 200 ccm., eventuell mehr, aufgefüllte Gemisch schüttelte ich kräftig durch und liess nur so lange stehen, bis sich oben eine klare Schicht gebildet hat — dies geschah meistens nach einigen Minuten; 3. der H_2O_2 -Zusatz geschah nur bei Harnen, die eine hohe Oxydationszahl hatten; 4. endlich habe ich nicht 22, sondern 20 ccm. der Cyankaliumlösung verwendet. Das macht die Vorschrift derjenigen von Denigés ähnlicher. In der nachfolgenden Tabelle stelle ich die Resultate zusammen.

Darin sind nur Mittelwerthe von übereinstimmenden Doppelanalysen aufgenommen worden. Die Werthe sind in Milligrammen auf 100 ccm. Harn ausgedrückt.

Nun möchte ich einige Bemerkungen über die Verhältnisse machen, die bei Anwendung dieser Methode speciell in pathologischen Harnen vorkommen. Es kommen hier zwei Umstände in Betracht: der eine betrifft die Methode, insofern sie auf dem Verfahren von Denigés basirt, der zweite bezieht sich auf das Oxydationsverfahren. Zur ersten Gruppe gehören jodidhaltige und stark durch Bakterien getrübe Harnen. Das Befreien der Harnen von Jod durch Silber¹⁾ ist bei der Xanthinkörperbestimmung schon deshalb nicht vortheilhaft, weil dabei der Harn 2fach verdünnt wird, was nicht ohne Einfluss auf die Genauigkeit ist,²⁾ und dann ist die Operation nicht immer leicht glatt auszuführen (wenigstens in dem luetischen Harnen, der mir vorgekommen ist). Die durch Bakterien verursachte

1) Huppert, S. 834. 10. Auflage.

2) Niemilowicz, l. c., S. 288.

Krankheit	Nr	Methode von Niemiłowicz	Methode von Salkowski	Zusatz	b=berechnet g=gefunden	Bemerkung		
I. Polyarthritis reumatica	1	2.1	—	80 ccm. Harn + 20 ccm. mit 1.16 mg. Xanthin	b 2.84 g 3.13	—		
				75 ccm. Harn + 25 ccm. mit 7.35 mg.	b 8.85 g 8.7	—		
II. Pleuro- pneumonia	3	11.8	9.9	—	—	Eiweiss		
III. Morbus Brighti	4	2.4	2.0	—	—	Eiweiss		
IV. Exudatum pleuriticum	5	4.5	—	75 ccm. Harn + 25 ccm. mit 4.3 mg.	b 7.7 g 7.4	—		
				6	4.7	4.1	—	—
				7	2.2	1.8	—	—
V. Pleuritis exudativa	8	5.1	—	75 ccm. Harn + 25 ccm. mit 6.1 mg.	b 9.93 g 9.8	—		
				9	5.1	4.5	—	—
VI. Diabetes mellitus	10	0.4	0.35	—	—	Zucker sp.G. 1.030		
VII. Splenitis	11	2.1	2.2	—	—	—		
				12	3.3	—	95 ccm. Harn + 5 ccm. mit 4.6 mg.	b 7.8 g 7.3
VIII. Diagnosis dubia	13	0.7	0.4	—	—	sp.G. 1.009		
IX. Polyarthritis reumatica	14	5.6	—	75 ccm. Harn + 25 ccm. mit 2.6 mg.	b 6.8 g 6.5	—		
X. Empyema pul- monum, hypertro- phia cordis	15	3.6	3.3	—	—	Eiweiss		

Trübung macht die Methode unmöglich, wenn es nicht gelingt, durch längeres Abwarten, bis der Niederschlag sich gut absetzt (hier ist der Zusatz von H_2O_2 besonders vortheilhaft), und vorsichtiges, wiederholtes Filtriren ein klares Filtrat zu erhalten. Beim Sammeln der 24stündigen Harnmenge sind

solche Fälle nicht gar selten. Was den zweiten Umstand betrifft, so ist bei dem Oxydationsverfahren vor Allem die Färbung, die der Harn nach Einwirkung des Chamäleons annimmt, wichtig. Im Allgemeinen wird der Harn etwas dunkler, was jedoch nicht störend ist, manchmal aber färbt er sich in verschiedenen Nüancen von gesättigt braun-roth, woran der Natriumsulfitzusatz nichts ändert, und die Analyse ist dann wegen der Undeutlichkeit der Endreaction sehr erschwert, oft unmöglich. So etwas ist bei den Harnen IV und V einige Male vorgekommen. Man kann versuchen, diesem dadurch abzuhelpen, dass man in einer Portion die Oxydationszahl bestimmt, in einer anderen ohne Indigocarmin die nöthige Menge des Chamäleons zusetzt und in dieser Portion die Analyse wie gewöhnlich ausführt. Dann bereitet es Schwierigkeiten, dass der Harn nach der Oxydation die Silberlösung schneller reducirt, als vorher. Schon in normalen Harnen ist es der Fall und darum hat Niemiłowicz in seiner Vorschrift den H_2O_2 -Zusatz empfohlen, noch stärker aber tritt das bei manchen pathologischen Harnen auf: im Harn eines Ischiaskranken war die Reductionskraft so gross, dass der Silberniederschlag in Folge des ausgeschiedenen Silbers in einigen Augenblicken schwarz wurde.

Eiweiss beeinträchtigt die Bestimmung nicht, Zucker ebensowenig. Bei Rheumaharnen ist die Farbe, die sie in alkalischer Reaction annehmen, störend für die Wahrnehmung der Endreaction.

Aus der angeführten Tabelle, in die alle übereinstimmenden Doppelanalysen aufgenommen sind, ergibt sich, dass die Methode von Niemiłowicz wirklich der von Salkowski nicht nachkommt, und diese gilt doch als die genaueste. In den Analysen mit Zusatz von Xanthinkörpern weichen die gefundenen Resultate nur um Zehntelmilligramme von den berechneten ab, in den Parallelanalysen nach Salkowski und Niemiłowicz stimmen die Werthe auf Zehntelmilligramme überein (mit Ausnahme der Analyse 3). Wir sehen weiter, dass die Werthe nach der Methode von Niemiłowicz etwas höher sind, als die nach Salkowski; es ist schwer zu entscheiden, was als richtiger zu betrachten ist. Für das

Verfahren von Salkowski spricht, dass bei demselben eine grössere Xanthinkörpermenge in Arbeit genommen wird, zu Gunsten der Niemilowicz-Methode wiederum der Umstand, dass hier nur wenige Operationen ausgeführt werden, was mit geringeren Verlusten verbunden ist. Beachtenswerth sind die Analysen 10 und 13. Wir sehen hier, dass das specifische Gewicht ohne grösseren Einfluss auf die Resultate ist, und weiter, was noch wichtiger ist, dass auch bei so kleinen Mengen das Verfahren von Niemilowicz und dasjenige von Salkowski übereinstimmende Resultate liefern. Trotzdem aber scheint es mir, dass bei Harnen mit so geringen Xanthinkörpermengen beide Verfahren nur einen vergleichenden Werth haben können. Die Versuchsfehler 0,2 mg auf 100 ccm. machen 30—50% der Gesamtmenge aus.

Die Ergebnisse zusammenfassend, kann man Folgendes sagen: Die Methode von Niemilowicz ist bei pathologischen Harnen ebenso genau wie diejenige von Salkowski, sie ist weniger umständlich und bedeutend schneller. In manchen Fällen aber bereitet die Ausführung der Methode Schwierigkeiten (siehe S. 22-23), besonders wegen der reducirenden Eigenschaften oder der Färbung, die nach der Oxydation entstehen.

Ich muss noch hervorheben, dass bei dieser Methode ausser der grössten Genauigkeit bei der Ausführung noch eine gewisse Uebung, wie übrigens bei jeder Methode, nöthig ist, und dass nur bei übereinstimmenden Doppelanalysen die Werthe als genau betrachtet werden können.

Es sei noch kurz über einige Versuche mitgetheilt, in denen ich mich überzeugen wollte, ob und wie viel Mangan nach der Oxydation und Ammoniakzusatz in Lösung bleibt. Es wurde ermittelt, dass nur qualitativ nachweisbare Spuren von Mangan in die mit CNK zu versetzende Lösung übergehen, und es handelte sich nun darum, zu bestimmen, wie viel Mangan in der Lösung vorhanden sein kann, ohne dass der Titer des CNK beeinflusst wird. Ich fand, dass bei einem Zusatz bis zu 10 mg $\text{MnCl}_2 + 4\text{H}_2\text{O}$ auf 100 ccm. Wasser der Titer unverändert blieb. Die Titerstellung wurde mit Zusatz von Salmiak aus-

geführt, sowohl beim reinen CNK, wie auch bei Zusatz von Manganchlorür.

Die experimentelle Prüfung, ob die Combination der Methoden von Denigés und Niemilowicz für die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harn geeignet ist, geschah mutatis mutandis auf dieselbe Weise wie bei den Xanthinkörpern. Parallelbestimmungen wurden nach Ludwig eventuell Geelmuyden ausgeführt: die Harnsäure wurde in schwach alkalischer Lösung zugesetzt. Die Berechnung ist sehr einfach: die Summe der Purinderivate wird nach Denigés bestimmt¹⁾ und die Xanthinkörper nach Niemilowicz: von der Anzahl Cubikcentimeter $\frac{1}{50}$ n-Silberlösung, die man nach Denigés erhält, subtrahirt man die Cubikcentimeter $\frac{1}{50}$ n-Silberlösung, die man nach Niemilowicz erhalten hat, und die Differenz mit 4,2 multiplicirt ergibt die Harnsäure in Milligramm auf 100 cem. Harn.

Im Nachfolgenden sind die Resultate tabellarisch zusammengestellt. Die Zahlen sind Mittelwerthe aus übereinstimmenden Doppelanalysen und drücken die Milligramme der Harnsäure auf 100 cem. Harn aus.

Man sieht aus der Tabelle, dass die zugesetzte Harnsäure fast gänzlich (im Mittel über 99%) zurückgewonnen wird: anders verhält sich die Sache mit den Parallelbestimmungen nach Ludwig und Geelmuyden. Die letztere Methode liefert fast durchaus (mit Ausnahme der Analyse 3 und 4) niedrigere Werthe, die Bestimmung nach Ludwig gibt einmal eine höhere, das zweite Mal eine niedrigere Zahl. Die Verhältnisse kann man, zumal wenn man in Betracht zieht, dass in der Analyse, in der die zugesetzte Harnsäure auch nach Geelmuyden bestimmt wurde, der gefundene Werth von dem berechneten mehr differirt, als es bei der Denigés-Niemilowicz-Methode der Fall ist, auf folgende Weise erklären: Der den Methoden von Ludwig und Geelmuyden gemeinsame Verlust an Harnsäure während der Erwärmung

1) Huppert, 10. Auflage, S. 833.

mit Mononatriumsulfid wird bei Ludwig durch die wechselnden Mengen des ins Filtrat und zur Wägung gelangten Schwefelsilbers auf- und manchmal überwogen. Das stimmt mit den Erfahrungen von Geelmuyden¹⁾ überein und zwingt zur Annahme, dass die Combinationsmethode nach Denigés-Niemilowicz, bei der kein merklicher Verlust an Harnsäure stattfindet, die richtigere ist.

Nr.	Denigés-Niemilowicz	Geelmuyden	Ludwig	Zusatz	Berechnet = b. gefunden = g nach Denigés-Niemilowicz	Berechnet = b. gefunden = g nach Geelmuyden	Bemerkung
1	42.2	41.5	—	—	—	—	—
2	41.2	42.5	—	800 ccm. Harn + 100 ccm. mit 0.374 g Harnsäure	b 71.4 g 72.0	—	zurück- gewonnen 101.2
3	63.6	60.6	—	—	—	—	—
4	54	54.5	—	—	—	—	—
5	70.6	68.8	—	—	—	—	—
6	37.8	35.2	—	—	—	—	—
7	50.4	48.6	—	400 ccm. Harn + 100 ccm. mit 0.097 g Guanin.	b 40.3 g 38.6	—	—
8	41.4	39.4	—	—	—	—	—
9	47.5	44.2	50.8	—	—	—	—
10	61.1	57.9	—	780 ccm. Harn + 120 ccm. mit 0.2068 g Harnsäure.	b 75.9 g 74.9	b. 73.2 g. 71.9	zurück- gewonnen nach Den.-Niem. 98.8, nach Geelm. 98.2
11	56.9	—	54.0	—	—	—	—
12	40.7	—	—	900 ccm. Harn + 100 ccm. mit 0.3425 g Harnsäure	b 70.9 g 70.4	—	99.2

Man könnte noch den Einwand erheben, dass nicht alle im Harn vorkommenden Xanthinkörper auf ihre Beständigkeit

¹⁾ Zeitschrift für analytische Chemie, Bd. 31, S. 159—161.

gegen Chamäleon geprüft wurden und dadurch, besonders in pathologischen Harnen, wo man zehn verschiedene Xanthinkörper entdeckt hat, die Möglichkeit nicht ausgeschlossen sei, dass die Harnsäure zu hoch, die Xanthinkörper zu niedrig ausfallen. Es scheint mir, dass dieser Vorwurf keine grössere Bedeutung haben kann und zwar aus folgenden Gründen: Xanthin, Hypoxanthin, Guanin wurden geprüft und erwiesen sich als gegen Chamäleon beständig. Vom Adenin behaupten dasselbe Krüger¹⁾ und Kossel. Was die übrigen Körper betrifft, so finde ich aus der mir zugänglichen Litteratur keinen Grund zur Annahme, dass sie unter den Bedingungen der Methode durch Chamäleon in Körper übergeführt werden, die durch die Silberlösung nicht gefällt werden.

Resumierend glaube ich wohl behaupten zu können, dass die Combinationsmethode nach Denigés-Niemilowicz den Anforderungen einer bequemen und genauen quantitativen Bestimmung der Harnsäure im Harn vollständig entspricht.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, dem Herrn Primararzt des Lemberger allgemeinen Krankenhauses Sanitätsrath Dr. Opolski und seinem Assistenten Dr. Heisig für die Bereitwilligkeit, mit der sie mir die Harnen zur Verfügung stellten, auch an dieser Stelle verbindlichst zu danken.

1) Diese Zeitschrift, Bd. XVIII. S. 425.